



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2020 60 stp

Fakultetet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

Forsøk på syntese av utvalgte lipider

Steinar Sollien Nicolaisen

Kjemi

Forord

Arbeidet med denne oppgaven ble utført ved kjemiavdelingen på Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet.

Først vil jeg takke mine veiledere professor Yngve Stenstrøm og doktor Simen Antonsen for en interessant og variert oppgave. Dere har vært veldig hjelpelige både med labarbeid og under skriveprosessen. I tillegg vil jeg også takke doktor Jens M. J. Nolsøe for gode teoretiske bidrag og vitser.

Takk til professor Dag Ekeberg for MS-analyse. Takk også til overingeniør Anne Gravdahl for bestilling av kjemikalier.

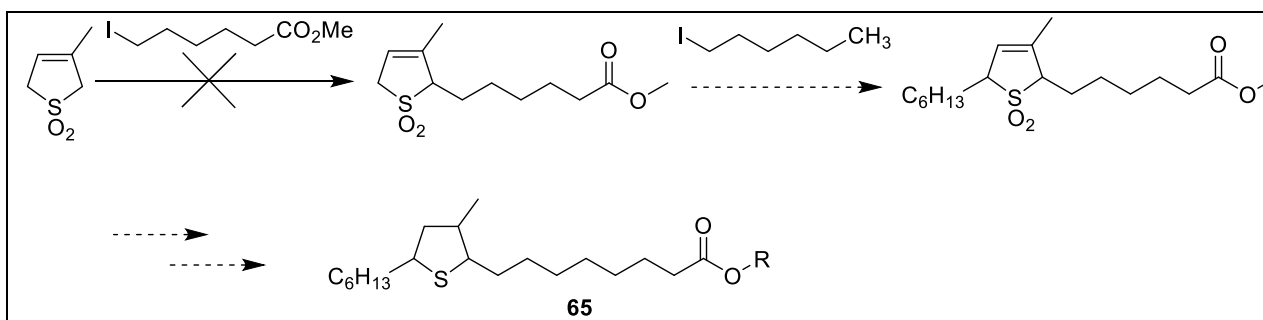
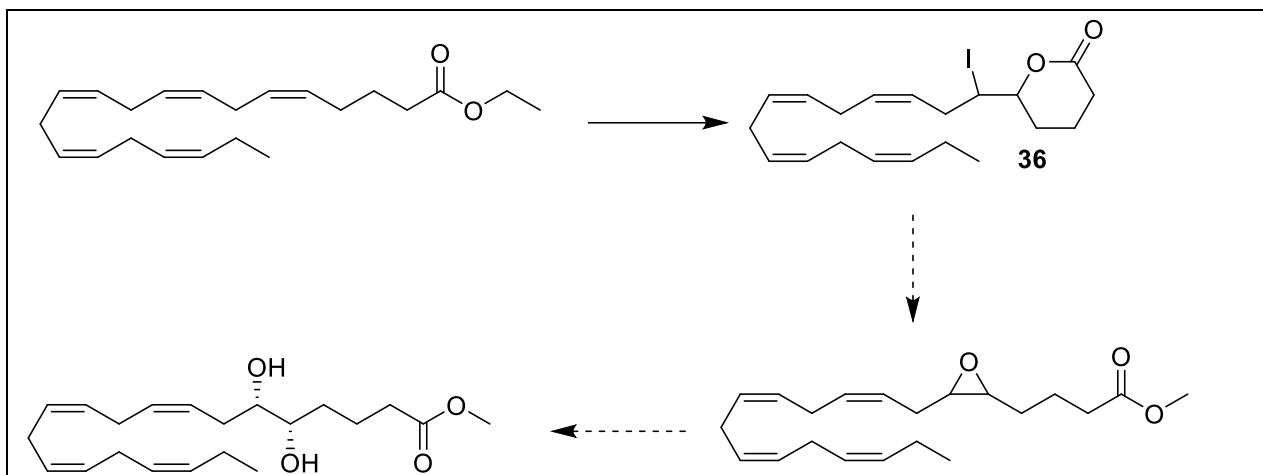
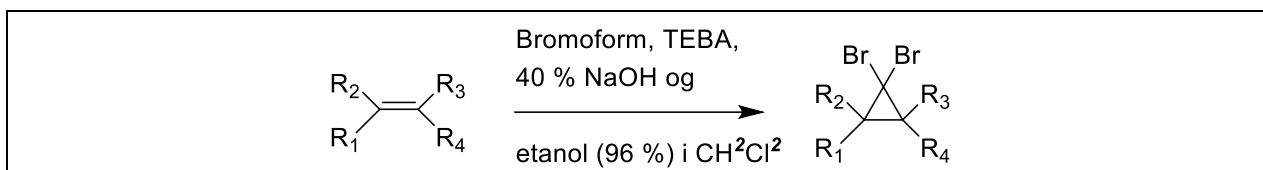
Takk til alle de andre studentene på syntesegruppen for et fint år og mange gode timer på laboratoriet.

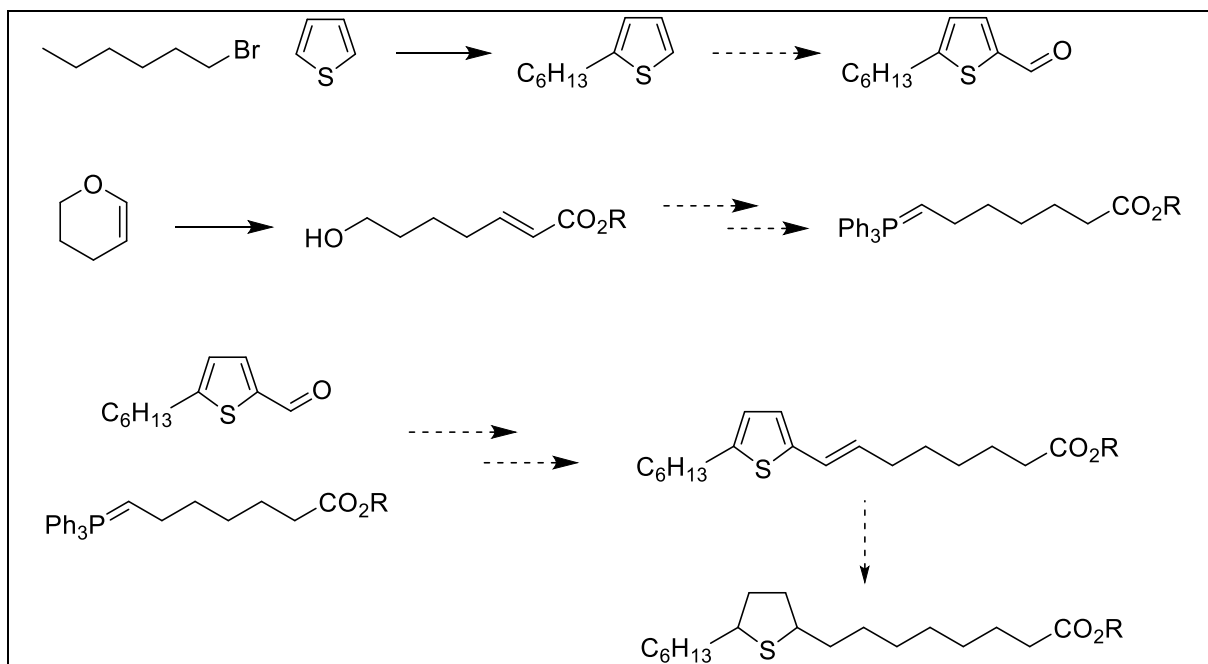
Til slutt vil jeg takke for all støtte fra familie og venner.

Ås, mai 2020

Steinar Sollien Nicolaisen

Grafisk Sammendrag





Sammendrag

Denne oppgaven ble satt sammen av tre mindre oppgaver. Den første av oppgavene var syntese av syklopropaner fra alkener med dibromkarbener som reaktant og mikroreaktor som system. Syklopropanene ble dannet med varierende resultater og de høyeste utbyttene kom fra de mest substituerte alkenene.

Den andre oppgave var et forsøk på å syntetisere 5*S*,6*S*-dihydroksyeikosapentansyre fra Eikosapentansyre (EPA) ved bruk av forskjellige salen-katalysatorer (Jacobsen-katalysator). Det første steget for å danne det første mellomproduktet, jodlakton av EPA, ble aldri fullført grunnet dårlige kjemikalier og syntesen stoppet derfor på dette stadiet.

Den tredje oppgaven var å syntetisere to svovelholdige fettsyrer fra henholdsvis 3-metyl-3-sulfolen og tiofen. For syntesen av metyl-6-(3-metyl-3-sulfolen-2-yl)-heksanoat ble 6-jodheksanoat syntetisert i et godt utbytte. Syntesen av metyl-6-(3-metyl-3-sulfolen-2-yl)-heksanoat var ikke like suksessfull da produktet ikke ble observert. Syntesestrategien ble derfor stoppet med dette steget.

Syntesen med tiofen ble aldri fullført pga. koronaviruset, men det som ble gjort opptil dette punktet var positivt. 2-heksyltiofen ble observert etter reaksjon mellom tiofen og 6-bromheksan. Som en del av synteseveien videre ble tetrahydro-2*H*-pyran-2-ol syntetisert. Dette var det første mellomproduktet til syntesen for HWE-reagenset. HWE-reagensen skulle senere reagere med 2-heksyltiofen for å danne 8-(5-heksyltiofen)oktanoat.

Abstract

This thesis describes three different projects. The first of these was to synthesize cyclopropanes from alkenes with the use of dibromocarbenes, using a capillary microreactor system. The cyclopropanes were formed with varying results and the biggest yields came from the most substituted reactants.

The second project was an attempt to synthesize 5*S*,6*S*-dihydroxyeicosapentanoic acid from eicosapentanoic acid (EPA) with the use of different salen-catalysts (Jacobsen). This synthesis was unfortunately stopped as the chemicals were expired and the first step in the synthesis to form the iodolactone from EPA was never completed.

The third project was to synthesize two different sulfur containing fatty-acids using both 3-methyl-3-sulfolene and thiophene. For the synthesis of methyl-6-(3-methyl-3-sulfolene-2-yl)-hexanoate, 6-iodohexanoate was synthesized in good yields. The synthesis of methyl-6-(3-methyl-3-sulfolene-2-yl)-hexanoate was not equally successful and the product was not observed.

The synthesis with thiophene was never completed because of the coronavirus, but the results were at this point positive. 2-hexylthiophene was observed after the reaction between thiophene and 6-bromohexane. As part of the further synthesis, tetrahydro-2*H*-pyran-2-ol was produced as the first step to synthesize the HWE-reactant that later would hopefully have reacted with 2-hexylthiophene to give 8-(5-hexylthiophen)octanoate.

Forkortelser

AA	Arakidonsyre
ACP	Acetyl carrier protein
BoNT/A	Botulinum neurotoxin A (botox)
DAST	Dietylaminosvoveltrifluorid
DHA	Dokosaheksaensyre ((all-Z)-dokosa-4,7,10,13,16,19-heksaensyre)
DMSO	Dimetylsulfoksid
EPA	Eikosapentaensyre ((all-Z)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre)
FAS	Fettsyresyntase (Fatty acid synthases)
GPCR	G-proteinkoblede reseptorer
HWE- reaksjon	Horner-Wadsworth-Emmons-reaksjon
LO	Lipooksygenase
LT	Leukotriener
LX	Lipoksiner
PG	Prostaglandiner
PUFA	Flerumettede fettsyrer (polyunsaturated fatty acids)
Rv	Resolviner
SPM	Spesialiserte pro-oppløsende mediatorer
TEA	Trietanolamin
TEBA	Trietylbenzylammoniumklorid

Innhold

Forord	I
Grafisk Sammendrag	II
Sammendrag	IV
Abstract	V
Forkortelser	VI
1. Innledning	1
1.1 Mål for oppgaven.....	1
1.2 Naturstoffkjemi.....	1
1.3 Lipider	4
1.3.1 Biosyntese av fettsyrer	4
1.3.2 Fettsyrer og inflammasjon.....	7
1.3.3 Prostaglandiner.....	11
1.3.4 Svovelholdigefettsyrer.....	13
1.4 Kjemisk bakgrunn.....	15
Wittig- og HWE-reksjon.....	15
Semisyntese av fettsyrer	17
Swern oksidasjon	21
Makosza-reaksjon	22
1.4 Flow-kjemi og mikroreaktor.....	23
2. Resultater og diskusjon	25
2.1 Syntese for 5S,6S-dihydroksyeikosapentansyre	25
2.2 Syntese av svovelprodukter	28
Sulfolenforbindelsen	28
Tiofenforbindelsen	30
Mikroreaktor	32
3. Konklusjon og videre arbeid.....	35

4.	Eksperimentelt	36
	Generelle bemerkninger.....	36
4.1	Jodlaktonisering.....	36
	Syntese av tetrahydro-6-((3Z,6Z,9Z,12Z)-1-jodpentadekatetranyl)pyran-2on.....	36
4.2	Synteser for svovelfettsyrene.....	37
	Syntese av metyl-8-bromoktanoat	37
	Syntese av metyl-8-jodoktanat.....	38
	Syntese av metyl-6-bromheksanoat	39
	Syntese av metyl-6-jodheksanoat.....	39
	Syntese av metyl-6-(3-metyl-3-sulfolene-2-yl)-heksanoat	40
	Syntese av 2-heksyltiofen	40
	Syntese av Tetrahydro-2H-pyran-2-ol	41
4.3	Mikroreaktor.....	41
5	Referanser	45
6	Vedlegg.....	50
6.1	Jodlakton.....	50
6.2	Spekter for prosjektet med tiofen	52
6.3	Mikroreaktor spekter og artikkel	60

1. Innledning

1.1 Mål for oppgaven

Målet for denne oppgaven har vært tredelt. Det første målet var å syntetisere dibromosyklopropaner fra alkener og dibromkarbener ved bruk av mikroreaktor. Det andre målet var å syntetisere to ulike, naturlige forekommende svovelholdige fettsyrer. Det tredje målet var syntese av 5*S*,6*S*-dihydroksyeikosapentansyre fra Eikosapentansyre (EPA) ved bruk av forskjellige salen-katalysatorer (Jacobsen's katalysator).

Syntesen av dibromosyklopropanene var fortsettelse på arbeidet til Østby *et.al.*¹ Reaksjonen som brukes i denne syntesen var en Makosza-inspirert dibromosyklopropanering. Hovedsubstratet som skulle testes var kanelaldehyd, men andre alkener ble også brukt i forsøket.

Dette er en interessant og viktig syntese fordi dibromosyklopropaner innenfor organisk kjemi er veldig allsidige i syntese av for eksempel allener, kumulener, syklopentadiener, sykliske acetal og naturprodukter.²

Delmål to var syntesen av de to naturlige forekommende svovelholdige fettsyrene **67** og **68**. Syntesen av **67** var en fortsettelse på arbeidet til Skiaker,³ og derfor var målet og forsøke syntese av **67** med C-6 sidekjede og olifinering.

Ettersom den biologiske aktiviteten til svovelholdige fettsyrene var lite kjent, var det ønsket å syntetisere disse for å undersøke dette. Svovelholdige fettsyrer i blant annet løk kan vise til anti-inflammatoriske egenskaper.⁴ Derfor vil det være interessant å studere om flere typer svovelholdige fettsyrer kan ha de samme effektene.

Siste delmålet var syntese av 5*S*,6*S*-dihydroksieikosapentansyre fra EPA ved å åpne et epoksid stereospesifikt. Dette skulle gjøres ved hydrolyse og bruk av Jacobsen's salen-baserte katalysatorer. Syntese av 5*S*,6*S*-dihydroksieikosapentansyre vil være interessant for å kunne gjøre biologiske tester, og i tillegg undersøke om den er forløper for spesialiserte pro-oppløsende mediatorer (SPM)

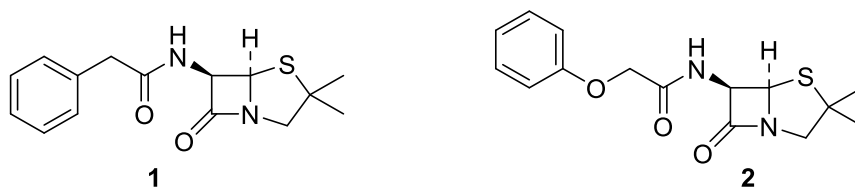
1.2 Naturstoffkjemi

Et naturprodukt er et organisk molekyl som eksisterer i naturen og er produsert av en organisme.⁵ Naturprodukter har i lang tid blitt brukt til produksjon av medisiner. De første medisinene ble ekstrahert direkte fra naturen. Med tiden ble disse forbindelsene mulig å

karakterisere og dermed kom også muligheten for å syntetisere dem i laboratorium. Dette ga opphav til analoger av naturproduktene, som i flere tilfeller ga mer aktive og tolerante medisiner.⁶

Benzylpenicillin (Penicillin G, **1**) var den første kommersielt tilgjengelige gruppen av antibiotika og er fremdeles en viktig medisin. Penicillin G produseres gjennom fermentering av *Penicillium chryogenum* og denne produksjonen er mer effektiv enn om den skulle blitt produsert vilt i naturen. Dette er fordi det kun brukes utvalgte DNA-tråder som gir høyt utbytte for fermenteringsprosessen.⁷

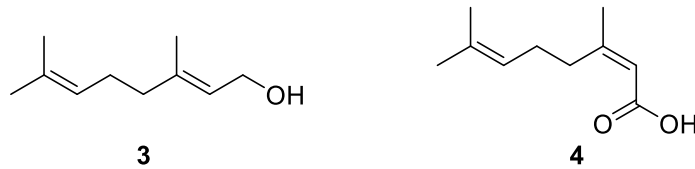
Ulempen med Penicillin G er at den dekomponerer under sure forhold, noe som ga opphav til fenoksimetylpenicillin (penicillin V, **2**). Addisjonen av etergruppa sørget for et elektron-tiltrekkende heteroatom i sidekjeden som gjør penicillin V syrerestistent. Dette er en viktig egenskap for å bekjempe infeksjoner i bl.a. respirasjonssystemet.⁷



Figur 1: Struktur for Penicillin G (**1**) og Penicillin V (**2**)⁷

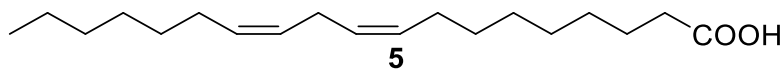
Naturstoffer deles inn i to grupper: primære og sekundære metabolitter. Primære metabolitter er eksempelvis karbohydrater, proteiner og nukleinsyrer. Dette er forbindelser som er essensielle for levende organismer og er stort sett like med noen få unntak og variasjoner. Sekundære metabolitter er eksempelvis alkaloider og terpenner. Dette er forbindelser som finnes kun i spesifikke organismer eller grupper av organismer. Hva slags fordeler de sekundære metabolittene har for en organisme er ikke kjent, men det er logisk å anta at de har en fordel for organismen. Eksempelvis kan de brukes for å lokke til seg en make eller produsere giftstoffer for beskyttelse mot jegere.^{5, 6}

Nasonovferomonet hos honningbier er et eksempel på en sekundær metabolitt. Dette er et rekrutteringssignal og slippes ut for å markere et område som egner seg for en ny bikube.⁸ Feromonet består av syv forskjellige terpenoider med bl.a. geraniol (**3**) og nerolsyre (**4**) som de viktigste komponentene.⁹



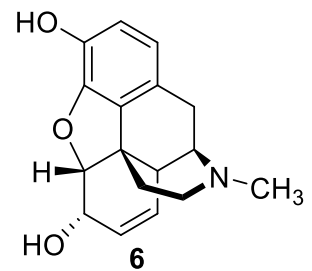
Figur 2: Viser geraniol ((2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol, 3) og nerolsyre ((2Z)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienoic acid, 4)

Et annet eksempel på naturprodukt er ω -6-fettsyren (9Z, 12Z)-oktadeka-9-12-diensyre (linolensyre, 5). Linolensyre er en av de mest konsumerte fettsyrene i den menneskelige dietten og brukes som både energikilde og kan esterifiseres til f.eks. fosfolipider, triacylglyserol og kolesterollestere.¹⁰



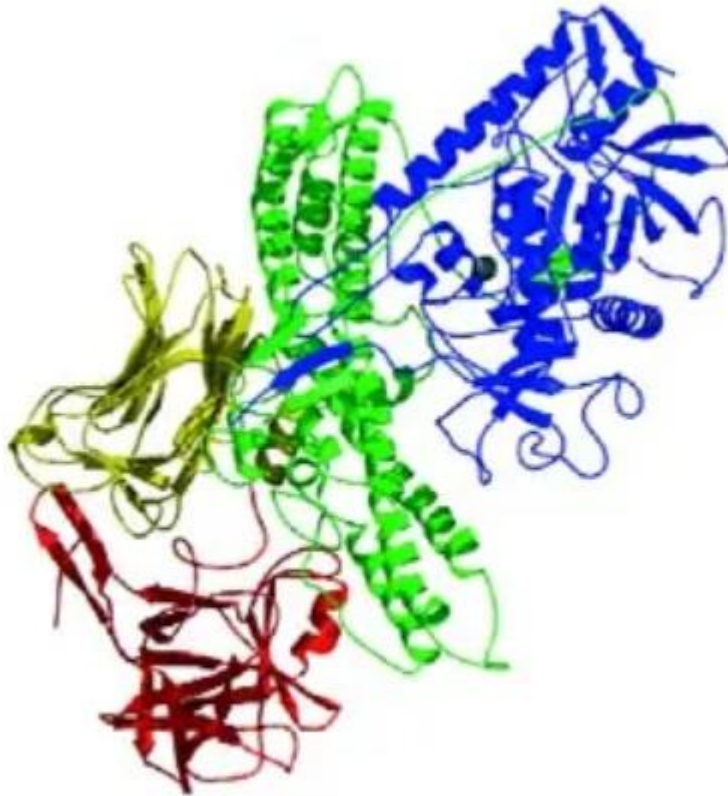
Figur 3: Viser strukturformel for linolensyre

Morfin (6) er et av de vanligste naturproduktene brukt i medisin. Det ble isolert fra opium i 1804 og er anerkjent som det første medisinske alkaloidet isolert fra planter.¹¹ Morfin er mest brukt som intravenøs ved akutt smerte eller smertefulle prosedyrer.¹² Morfin er navngitt etter den greske guden Morpheus, som er den greske guden for drømmer.¹¹ Grunnen er en av sideeffekt som er at man kan havne på et stadium av eufori.¹³



Figur 4: Struktur for morfin (6)

Botulinum neurotoxin A (BoNT/A) er et av de mest giftige proteinene som er oppdaget. Dette er en nervegift som ødelegger kjerneproteiner i nervesystemet og hemmer eksocytose. I tillegg kan BoNT/A fremkalle vedvarende, men reversible inhiberinger av neurotransmittere.¹⁴ Denne inhiberingen er blitt utnyttet til behandling av patologisk muskel hyperaktivitet fordi den ved injeksjon vil det føre til en mild paralysen. Denne milde paralysen er også blitt populær innen mote for å fjerne rynker og er bedre kjent i dagligtalen som botox.¹⁵



Figur 5: Stereodiagram av "backbone trace" for BoNT/A modellen¹⁶

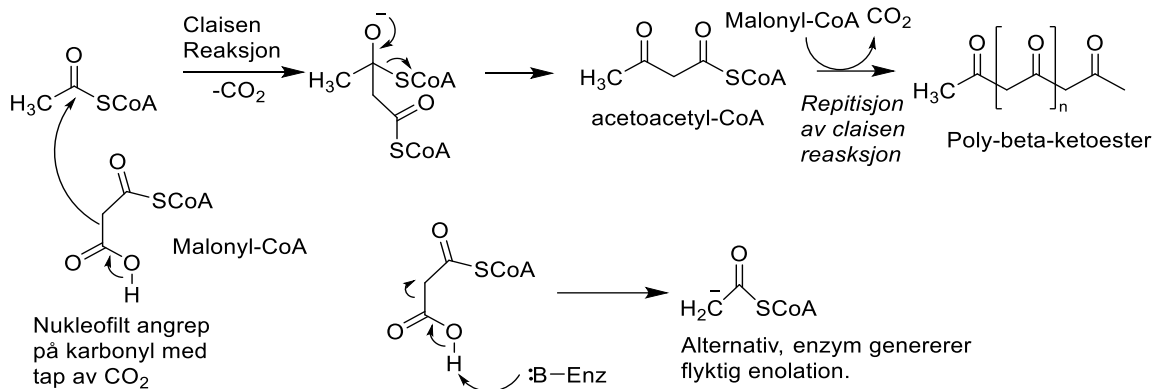
1.3 Lipider

Et lipid er en fellesbetegnelse for molekyler som er hydrofobe eller amfipatiske; disse kan stamme fullstendig eller delvis fra karbanionbaserte kondensasjonsprodukter av tioestere og/eller karbokation baserte kondensasjoner av isoprenenheter.¹⁷ Lipider kan deles inn i flere strukturelt forskjellige grupper som fettsyrer, fosfolipider, prostaglandiner, steroider, terpener og voks.¹⁸

1.3.1. Biosyntese av fettsyrer

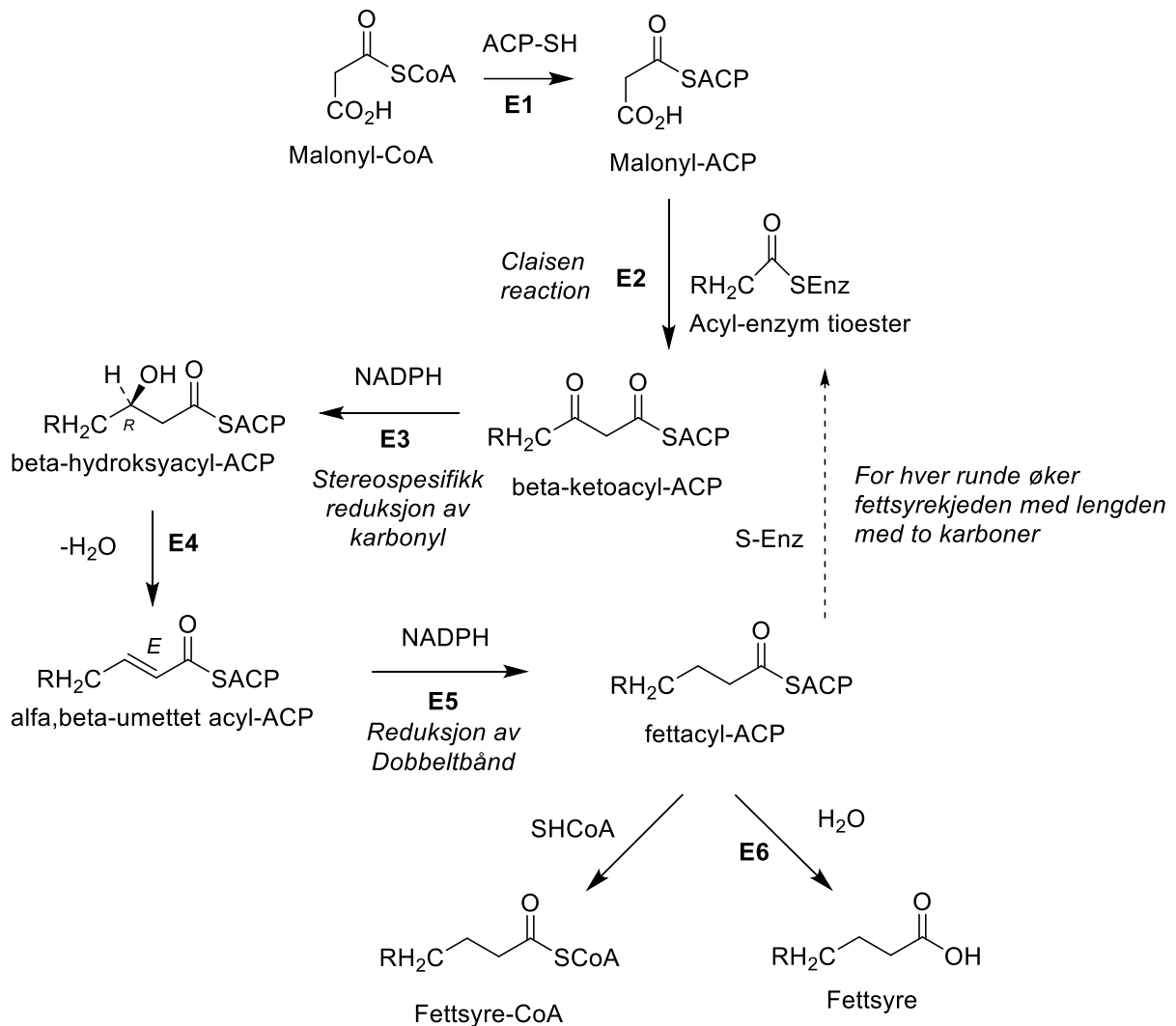
De første rapportene om fettsyresyntese kom i 1907. Henry Stanley Raper var blant dem som mente C₂-byggesteinene kunne være startmaterialet for fettsyrer,¹⁹ men han klarte ikke bestemme om det var etanol, acetaldehyd eller eddiksyre som var forløper. I 1944 kom derimot svaret. Acetat markert med ¹³C på karbonylgruppa og deuterium på metylgruppa bekreftet fettsyrer faktisk ble syntetisert med C₂-byggesteiner. Det var imidlertid først et par år senere at oppdagelsen av koenzym A (CoA) ble gjort og konklusjonen ble at den aktiverte formen av acetat, acetyl-CoA, var C₂-forløperen til fettsyrer.²⁰

Ved retrosyntese av poly- β -keto kjeder vil startmaterialet kunne være to acetyl-CoA molekyler som reagerer med hverandre ved en Claisen-reaksjon. Dette er ikke tilfelle fordi acetyl-CoA blir karboksylert til malonyl-CoA. Dette øker syrestyrken av α -hydrogene og gir en bedre nukleofil for Claisen reaksjonen. I første steget vil et acetyl-CoA molekyl og et malonyl-CoA molekyl reagere, og de påfølgende Claisen-reaksjonene vil byggesteinen være malonyl-CoA (skjema 1).⁶



Skjema 1: Viser Claisen reaksjon med malonyl-CoA

For kondensasjonssteget blir acetyl-CoA og malonyl-CoA omgjort til enzytbundede tioestere, og malonyltioester er bundet til acetyl carrier protein (ACP). Malonyl-ACP gjennomgår Claisen reaksjonen med acyl-enzymtioester og danner β -ketoacyl-ACP. Deretter følger en reduksjon med NADPH til β -hydroxyacyl-ACP før eliminasjon av vann gir (*E*)- α,β -umettet-acyl-ACP. Deretter skjer det en ny reduksjon med NADPH som gir fettacyl-ACP og ved dette punktet i reaksjonen kan den enten startes på nytt eller avsluttes. Fettacyl-ACP kan reagere med HS-Enz og starte prosessen på nytt, og dermed øke karbonkjeden med 2 karboner hver runde for å oppnå ønsket lengde. Reaksjonen avsluttes enten ved at fettacyl-ACP reagerer med HSCoA til fett-acyl-CoA eller reagerer med vann for å gi ønsket fettsyre (skjema 2).⁶



Skjema 2: Viser fettsyresyntese i animalia. E1: Malonyl/acetyl transferase; E2: Ketosyntase; E3: Ketoreduktase; E4: Dehydratase; E5: Enoyl reduktase; E6: Tioesterase⁶

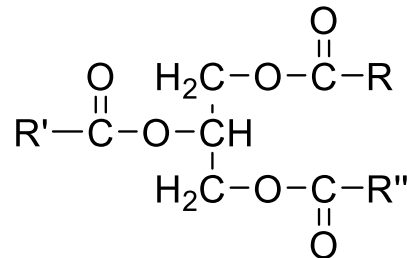
I biosyntese av fettsyrer er den viktigste komponenten fettsyresyntase (FAS). FAS varierer fra organisme til organisme. I animalia er det et stort multifunksjonelt protein med syv adskilte funksjonelle domener. Disse domenenene er alle et polypeptid, kodet av et enkelt gen. FAS i sopp er også et multifunksjonelt enzym, men her er de syv domenenene fordelt over to ulike polypeptider, α og β .⁶

FAS i animalia og sopp er kalt FAS type I. I bakerier og planter er det en annen form for FAS, FAS type II. Dette er en sammensetning av enzymer som er kodet av separate gen.^{6, 21} Tiltros for at FAS-systemene er forskjellige utfører de den samme oppgaven.⁶

1.3.2. Fettsyrer og inflammasjon

Fettsyrer er sentrale byggesteiner for liv. De brukes til byggesteiner for biologiske membraner, til energilagring og som budbringere i kroppen. I tillegg kan de brukes for modifisering av post-translatoriske proteiner og modulere genuttrykk.²²

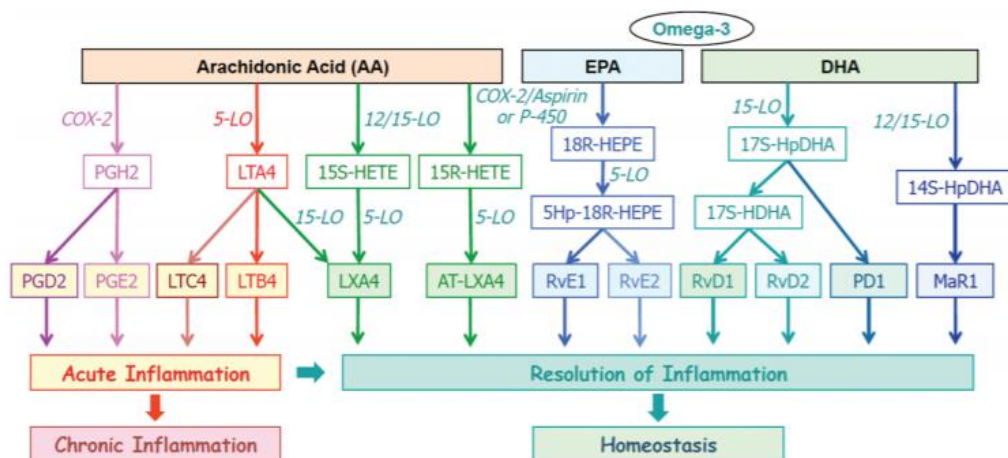
Fettsyrer kan eksistere alene, men finnes for det meste i esterkombinasjon med glyserol. Dette kalles et triglyserid (figur 6). Triglyserider deles inn i mettet og umettet fett. Mettede fettsyrer er som oftest faste stoffer, mens umettede fettsyrer er ofte oljer og finnes for det meste i planter og fisk.⁶



Figur 6: Generell struktur for fettsyrer i esterkombinasjon med glyserol

Flerumettede fettsyrer (PUFA) er viktig for kroppen i form av helsefremmende effekter. Dokosaheksaensyre (DHA) er en ω-3-fettsyre. Lavt inntak av den er satt i sammenheng med flere kognitive sykdommer hos eldre, deriblant Alzheimers sykdom.²³ I tillegg er DHA, sammen med forløperen EPA, utgangsmaterialet til flere SPM-er.²⁴

SPM-er er viktige for kroppen ettersom de regulerer oppløsningen av inflammasjon (skjema 3).²⁴ Inflammasjon er kroppens forsvarsmekanisme på en skadelig stimulus, som for eksempel patogener og ødelagte celler eller vev. Begynnelsen av denne prosessen kalles akutt inflammasjon. Her sender kroppen ut hvite blodceller for å fikse skaden.²⁵



Skjema 3: Biosyntetisk kaskade og handlinger for derivater av arakidonsyre (AA), EPA og DHA. Skjemaet er hentet fra referanse 24.

Dersom inflammasjon av ulike årsaker ikke kan stanses av pro-oppløsende mediatorer, vil den etter hvert bare øke og gå fra akutt til kronisk. Dette øker fibrose og er satt i sammenheng med patogenese av diverse sykdommer.²⁴ Selv om inflammasjon er ment som en beskyttende prosess, kan den også forverre situasjonen istedenfor å reparere. Om inflammasjonen ikke kontrolleres, kan det resultere i akutte, kroniske og systematiske lidelser som for eksempel hjerte- og karsykdommer, astma, diabetes og Alzheimer sykdom.²⁴

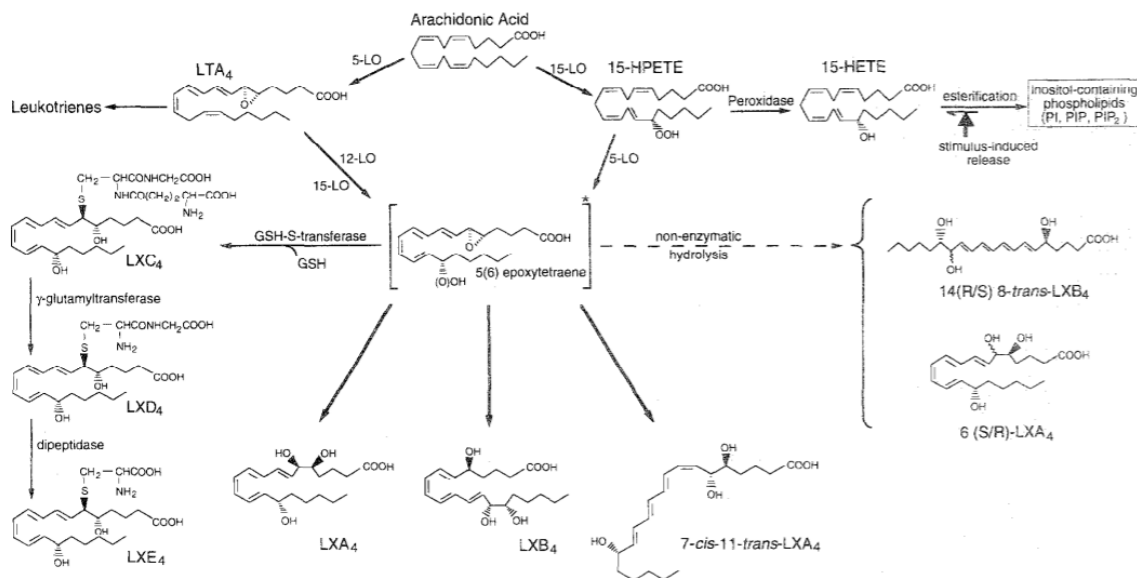
Ved inflammasjon blir fettsyrene Arakidonsyre (AA), EPA og DHA frigitt til kroppen. Disse fettsyrene starter en rekke biosyntetiske prosesser og derivatene fra disse virker på spesifikke G-proteinkoblede reseptorer (GPCR). Aktivert vil disse reseptorene påvirke uttrykket i flere enzymer, kjemokiner, cytokiner og vekstfaktorer, som alle har viktige roller i inflammasjon og oppløsningen (skjema 4).²⁴



Skjema 4: Viser hendelsesforløpet ved aktivering av GPCR ved inflammasjon

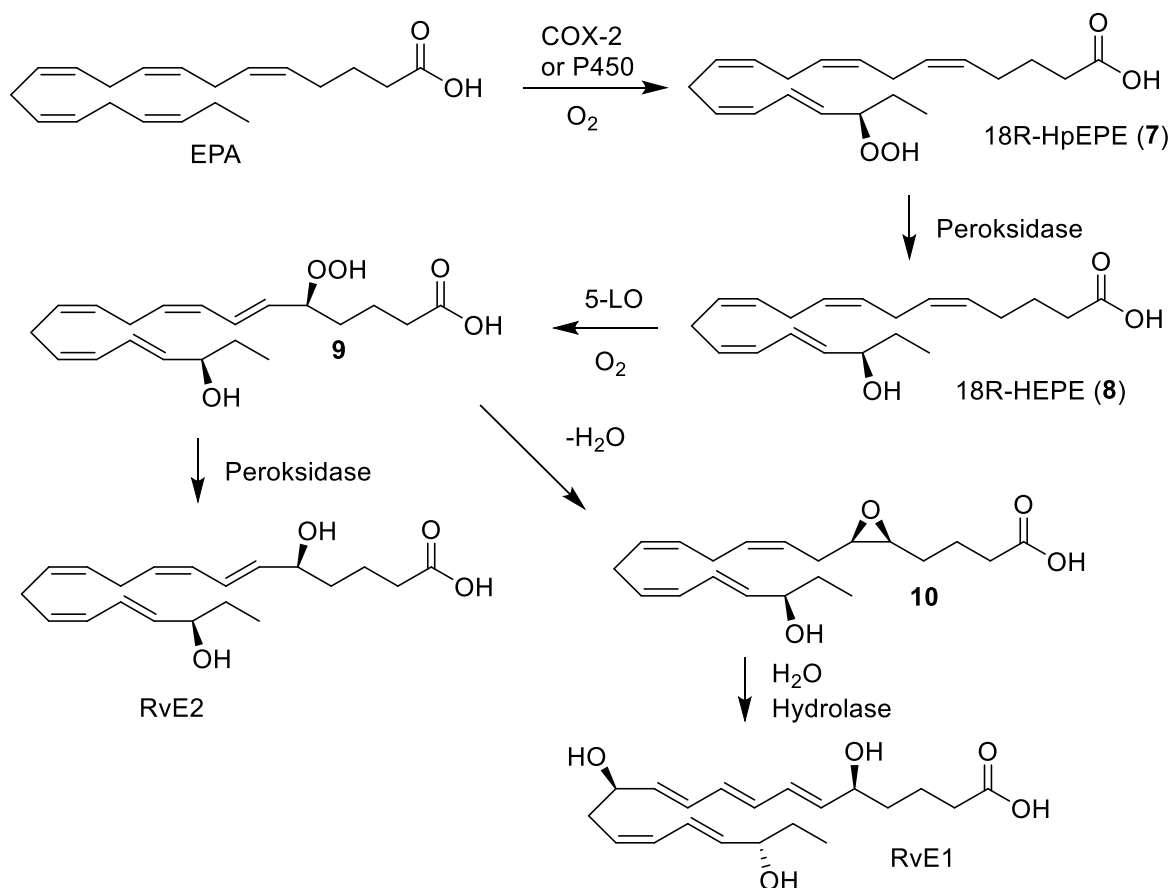
AA er en viktig bidragsyter i begynnelsen av inflammasjonsprosessen. Her omdannes fettsyren til leukotrienene (LT) B₄ og C₄ ved at 5-lipooksygenase (LO) gir LTA₄ fra AA. LTA₄ hydrolyseres videre til LTB₄, eller konjugeres til LTC₄ med glutation. Alle LT er med og bidrar for kroppens forsvarssystem.²⁶

AA er i tillegg viktig for oppløsning av inflammasjon. Fettsyren danner lipoksiner (LX), som er eicosanoider og har anti-inflammatoriske og pro-oppløsende bioaktiviteter. LX dannes ved at AA reagerer med sekvensiell 15-LO og videre med 5-LO for å generere LXA₄. En annen reaksjonsvei er LTA₄ som reagerer med 12-LO for å danne LXA₄ og LXB₄ (skjema 5).²⁷



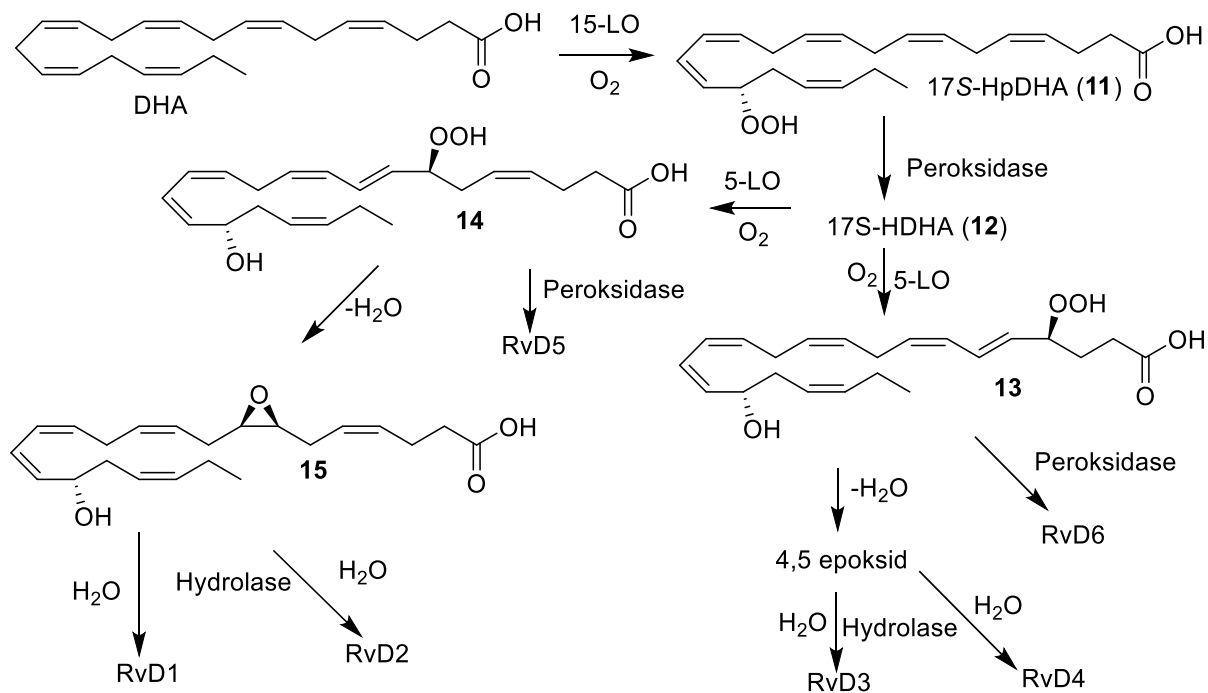
Skjema 5: To reaksjonsveier for lipoksiner fra AA i menneskelig celler og vev. Skjemaet er hentet fra referanse 28.²⁸

I tillegg til AA er også EPA og DHA viktige i oppløsningen av inflammasjon. EPA produserer bl.a. E-serie resolviner (RvE1 og RvE2) som dannes ved oksygenering av EPA, katalysert av acetylt COX-2 eller cytokrom P450. Produktet her er 18R-HpEPE (7) som ved reaksjon med peroksidase danner 18R-HEPE (8). En ny oksygenering, denne gangen katalysert av 5-LO, gir et mellomprodukt (9) som kan reagere to veier. Den første er eliminering av vann og deretter en hydrolase katalysert reaksjon med vann for å gi RvE1. Den andre er reaksjon med peroksidase å danne RvE2 (skjema 6).²⁴



Skjema 6: Biosyntese for E-serie resolvinene

DHA produserer D-serie resolviner (RvD1, RvD2, RvD3, RvD4, RvD5 og RvD6), neuroprotectiner/protectiner (NPD1/PD1) og maresiner (MaR1). Resolvinene dannes ved at DHA først gjennomgår en oksygenering katalysert av 15-LO. Mellomproduktet, 17S-HpDHA (**11**), vil reagere videre med peroksidase og danne 17S-HDHA (**12**), som vil gjennomgå en oksygenering katalysert av 5-LO. Her er det to mulige produkter; enten skjer oksygeneringen på karbon 4 (**13**) eller 7 (**14**). Ved oksygenering på karbon 4 får vi **13** som igjen har to mulige reaksjonsveier. Den første er reaksjon med peroksidase som gir RvD6. Den andre starter med en eliminasjon av vann, før en hydrolasekatalysert reaksjon med vann gir både RvD3 og RvD4. Ved oksygenering på karbon 7 får vi mellomprodukt **14** som også har to mulige reaksjonsveier. Den første er reaksjon med peroksidase som gir RvD5. Den andre er eliminasjon av vann som gir mellomproduktet **15**. Ved en hydrolasekatalysert reaksjon med vann av mellomproduktet **15** blir RvD1 og RvD2 dannet (skjema 7).²⁴

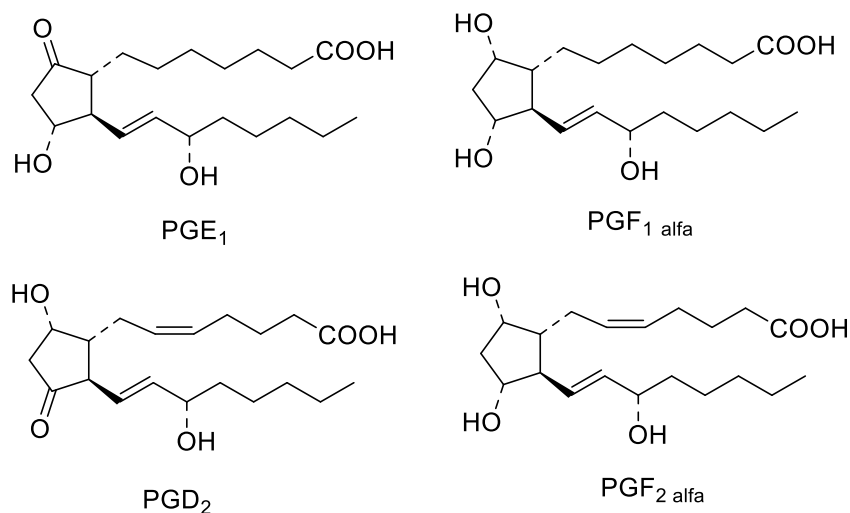


Skjema 7: Biosyntese for D-serie resolinene

1.3.3 Prostaglandiner

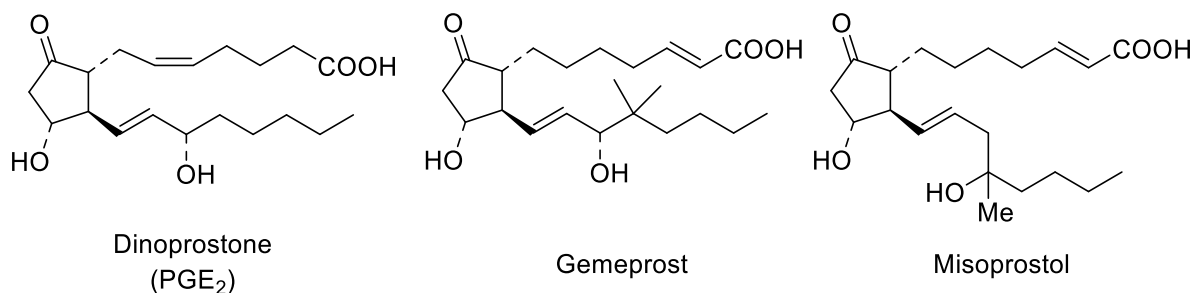
Prostaglandiner (PG) er en gruppe modifiserte fettsyrer først isolert fra menneskesperm i 1935 av U.S. von Euler.²⁹ De ble antatt utskilt fra prostatakjertelen, derav navnet prostaglandiner. Strukturene er sykliserte C₂₀ fettsyrer bestående av en syklopentan-ring, en C₇-sidekjede med en terminal syregruppe og en C₈-sidekjede med en terminal metylgruppe.⁶

De mest naturlig forekommende prostaglandinene er PGD₂, PGE₁, PGE₂, PGF_{1α} og PGF_{2α} (figur 7). Disse, i tillegg til de mindre vanlige prostaglandinene, brukes i mange farmasøytiske prosesser. Eksempler kan være avslapning av den glatte muskulaturen i livmoren, sirkulasjonssystemet, meltingskanalen og vev i bronkiene. I tillegg er de også viktige for å kontrollere blodtrykk, dempe blodplateoppsamling, og som mediatorer i den inflammatoriske prosessen.⁶



Figur 7: Viser strukturformel for PGE₁, PGF_{1α}, PGD₂ og PGF_{2α}.

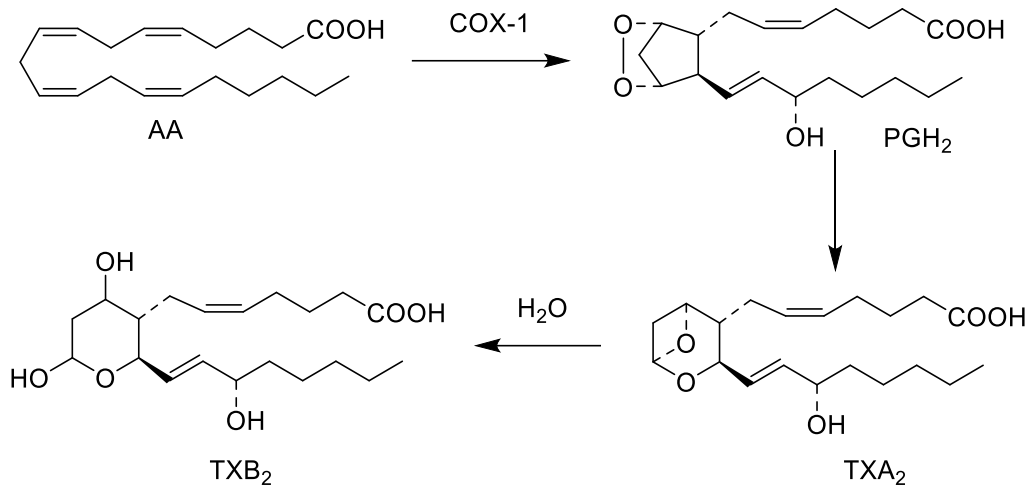
Et konkret eksempel innenfor legemiddelindustrien er misoprostol³⁰ og dinoprostone (PGE₂) (figur 8).⁶ Disse prostaglandinene brukes innenfor graviditet til både abort i de tidlige stadiene av graviditeten, eller indusering av fødsel ved termin.⁶ Misoprostol er det vanligste å bruke mot abort, men er mest effektiv når den brukes sammen med mifeprostone der dette er tilgjengelig. Gemeprost er et annet prostaglandin som brukes til abort, men er vanskeligere å lagre ettersom denne medisinen trenger -10°C mens misoprostol kan lagres ved romtemperatur.³⁰ For å indusere fødsel er det vanligste legemiddelet PGE₂, dette tross for at misoprostol også her er mer effektiv, billigere og enklere å lage.³¹



Figur 8: Strukturene for prostaglandinene dinoprostone, gemeprost og misoprostol

Biosyntese av prostaglandiner skjer ved at AA frigis fra cellemembranen av fosfolipase og metaboliseres fortløpende av cyclooxygenase (COX). I kroppen er det to forskjellige COX-enzymmer, navngitt COX-1 og COX-2. COX-2 foretrekker prostaglandinsyntese og *in vivo* blir det dannet fire bioaktive prostaglandiner: PGE₂, PGI₂, PGD₂ og PGF_{2α}. COX-1 syntetiserer

også prostaglandiner, men dette enzymet er også favorisert for syntese av tromboksaner (TX) (skjema 8).³²

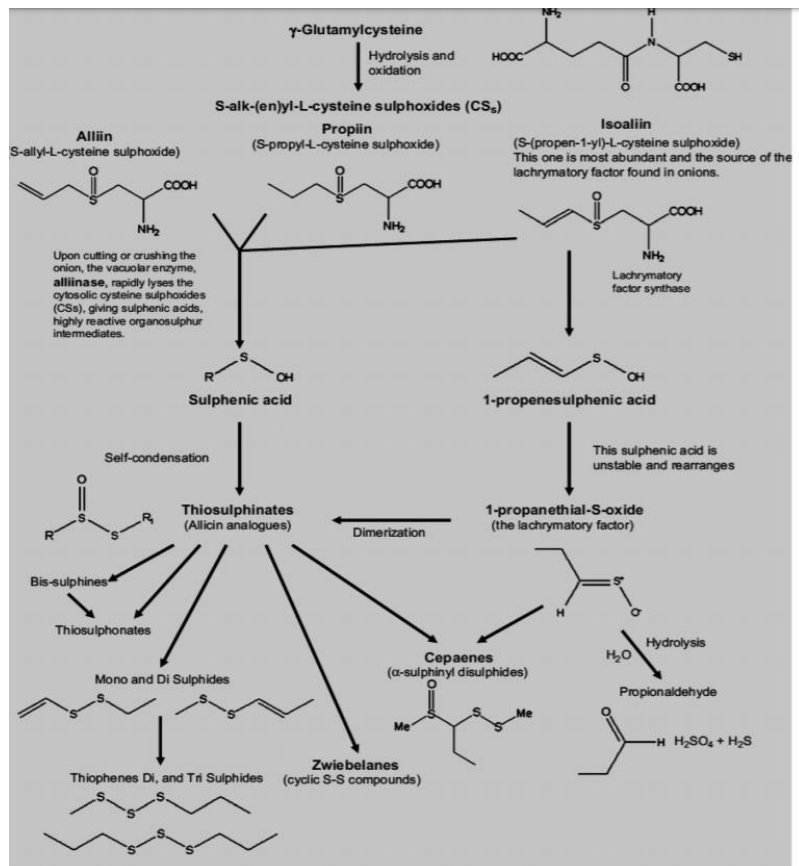


Skjema 8: Viser reaksjonsforløpet fra arakidonsyre til TXB₂.^{6, 32}

TX er en sidegruppe fra prostaglandiner. TXA₂ dannes ved brytning av peroksid- og syklopentanringen på PGH₂ som deretter restruktureres til TXA₂. TXA₂ er ganske ustabil, og i vandig miljø reagerer den til det biologisk inaktive hemiacetalet TXB₂. I kroppen er TXA₂ en stimulator for vasokonstriksjon og blodplateoppsamling.⁶

1.3.4 Svovelholdige fettsyrer

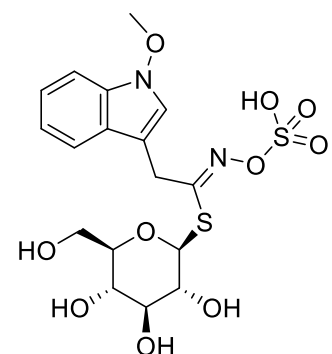
Svovelholdige fettsyrer er sjeldne, men i naturen er de isolert fra både løkfamilien og raps.³³ I løkfamilien dominerer flyktige svovelfettsyrer aromaprofilen og den særegne lukta stammer fra alliinase-katalysert dekomponering av *S*-allyl-*L*-cysteinsvoveloksid (alliin). Produktene fra denne dekomponeringen er sulfensyrer, som er veldig reaktive og danner tiosulfanater. Blant disse tiosulfanatene finnes allicin, som gir lukten av nykuttet løk (se skjema 9).^{34, 35} Allicin har i tillegg høy antibiotisk effekt mot gram-positive bakterier, og er delvis effektiv mot gram-negative bakterier.³⁶



Skjema 9: Viser reaksjonsveier for forskjellige organosvovelforbindelser. Skjemaet er hentet fra referanse 35.

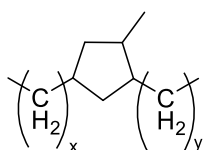
Alliin har, i tillegg til å være startmateriale for løkklukt, anti-inflammatoriske effekter. Ved en skade vil alliin inhibere blodplateoppsamling og dempe inflammasjon.⁴ Dette er bra fordi oppløsning av blodplater kan føre til utslipp av ekstra tetningsmateriale og dermed gi ubehagelige hevelser.³⁷

Svovelholdige fettsyrer er også vanlig i raps, men fra et menneskelig ståsted er de regnet som uønsket. Dette er fordi disse molekylene regnes som gift for hydrogeneringskatalysatorer og mengder helt ned på mg/kg skala kan forstyrre hydrogeneringsprosessen. I tillegg til å være katalyseringsinhiberende blir svovelfettsyrer holdt ansvarlige for ubehagelige dufter som oppstår når rapsolje blir varmet opp. Opphavet til disse svovelmolekylene antas å være hydrolyse av glukosinolater som finnes i rapsfrøene.³⁹



Figur 9: Viser struktur på glukosinolatet (1-metoksi-3-(indolyl)metylglukosinolat som bl.a. finnes i rapsolje³⁸

For å unngå problemene med svovelholdig raps blir det brukt en type rapssort uten glukosinolater som kalles canolaolje. Til tross for at denne oljen inneholder mye mindre svovelholdige fettsyrer som følge av mangelen på glukosinater, ble de katalytiske hydrogeneringsprosessene fremdeles forstyrret. Ved nærmere undersøkelse ble det bestemt at det var tre forskjellige typer svovelholdige molekyler i canola: flyktige, ikke flyktige og termolabile. Wijesundera og Ackman (1988) foreslo 3 ikke-flyktige strukturer for svovelbærende komponenter i ubehandlet canola. Disse komponentene er isomere epitiostearinsyrer med en metyl substituent på ringen (figur 10).³⁹



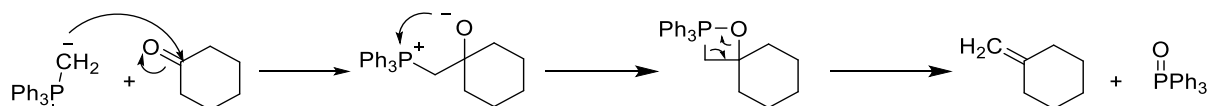
	x	y
1	5	7
2	6	6
3	7	5

Figur 10: Viser de foreslåtte strukturer for ikke-flyktige svovelfettsyrer i raps.³⁹

1.4 Kjemisk bakgrunn

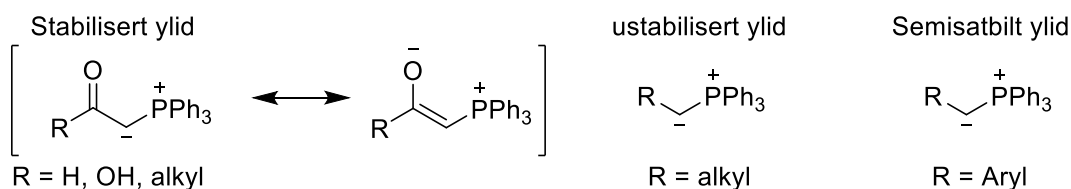
Wittig- og HWE-reksjon

Wittig-reaksjonen brukes for å introdusere en C=C binding for en C=O binding. Selve reaksjonen skjer mellom et aldehyd eller keton, og et fosfonium ylid (skjema 10). Et ylid er et molekyl som inneholder både en positiv og en negativ ladning på atomer ved siden av hverandre i et og samme molekyl. Fosfoniumylidet dannes fra fosfoniumsalt ved deprotonering med en sterk base som for eksempel BuLi eller natriumhydrid.⁴⁰



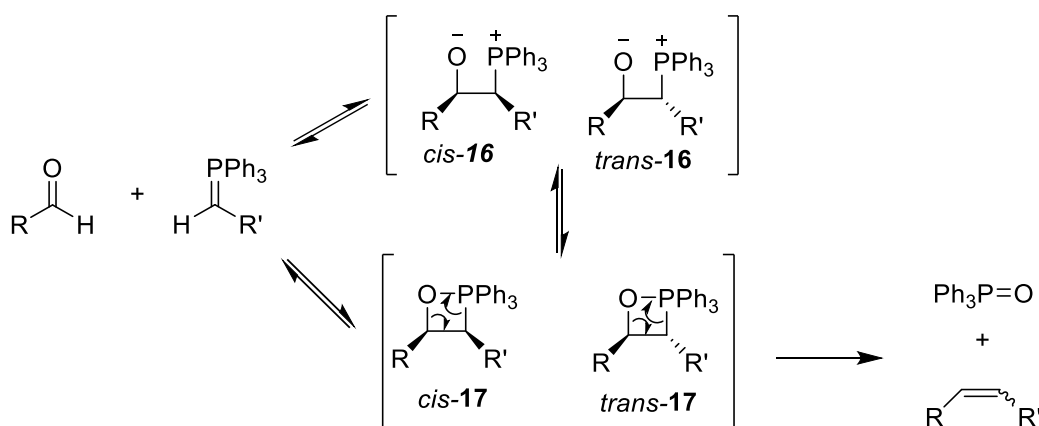
Skjema 10: Viser mekanisme for Wittig-reaksjon

Wittig-reaksjonen gir en C=C binding med høy geometrisk kontroll. Reaksjonen vil favorisere Z-alkener når fosfoniumylidet er ikke-stabilisert, E-alkener når fosfoniumylidet er stabilisert og en blanding når av E/Z-isomere når fosfoniumylidet er semi-stabilisert.³⁸



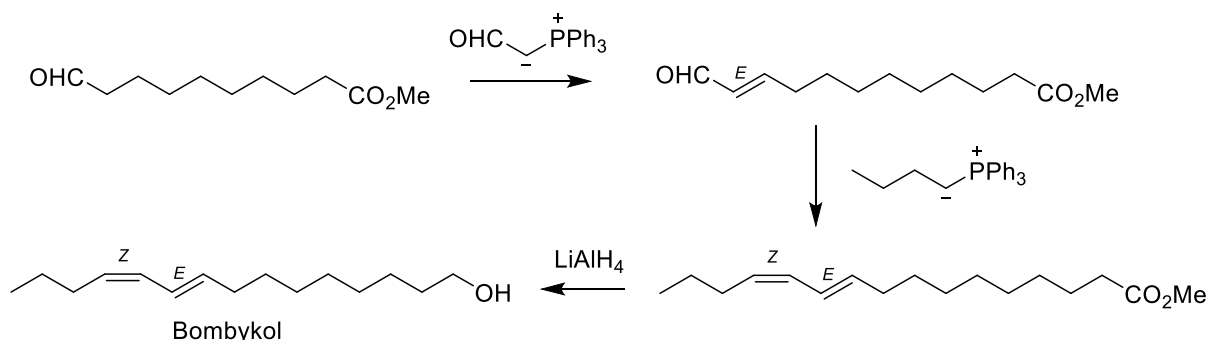
Skjema 11: Viser stabilisert, ustabilisert og semistabilisert fosfoniumylid

Som mellomprodukter i en Wittig-reaksjon dannes det både et *cis*- og et *trans*-betain (**16**).⁴¹ *Cis*-betain er det kinetiske produktet og vil derfor dannes raskere enn det termodynamiske produktet, *trans*-betain, som er mer stabilt.⁴² Betainet lukkes til oksofosfetan (**17**) som dekomponerer til alkenet og trifenyfosfinoksid (skjema 12).⁴³



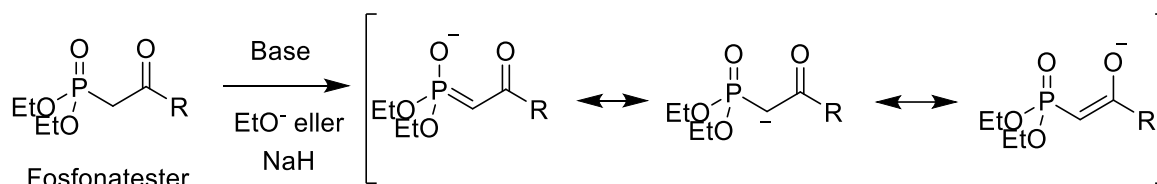
Skjema 12: Mekanisme for Wittig-reaksjon

Et eksempel som viser kontrastene for Wittig-reaksjonen ved forskjellige R-grupper på fosfoniumylidet er syntesen vist i skjema 13. Bombykol blir produsert av kvinnelige silkeormer og er et feromon som tiltrekker hanner. Bombykol er en *E,Z*-dien og syntesen inneholder to etterfølgende Wittig-reaksjoner hvor første steget bruker et stabilisert ylid og andre steget bruker et ustabilisert ylid for å kontrollere stereokjemien i produktet.⁴⁰



Skjema 13: Viser syntese av Bombykol

Et problem med å bruke Wittig-reaksjonen som syntesevei er at den gir en blanding av *E*- og *Z*-isomere.⁴⁴ Derfor er denne reaksjonen modifisert flere ganger for å unngå blanding. Et eksempel er ved syntese av *E*-alkener. I noen tilfeller kan fosfoniumylider være så stabile at de ikke er veldig reaktive. I disse situasjonene er bruk av fosfonatestere fremfor fosfoniumylider bedre. Fosfonatesteret kan bli deprotonert av natriumhydrid eller et alkoksidanion for å gi et enolation (skjema 14). Fosfonatesteres reaksjon med aldehyder og ketoner er kalt for Horner-Wadsworth-Emmons-reaksjon (HWE-reaksjon).⁴⁰



Skjema 14: Skjematisk visning av dannelse av enolation fra fosfonatester

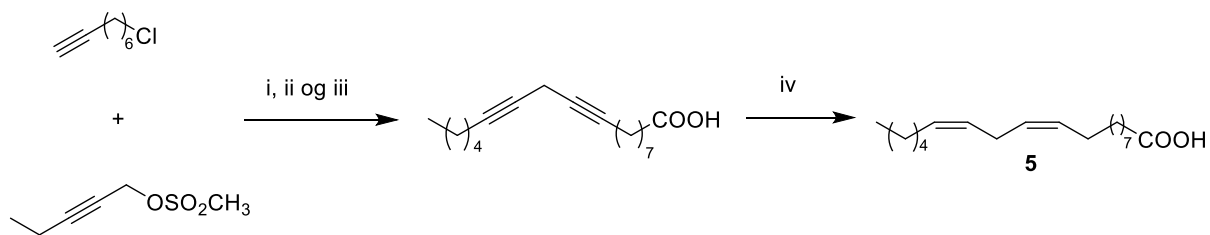
Fordelene ved å bruke HWE-reaksjonen i stedet for Wittig-reaksjonen er at HWE i mange tilfeller er billigere og den reagerer med et større utvalg aldehyder og ketoner.⁴⁵ Ofte kan HWE-reaksjonen brukes ved mye mildere forhold enn Wittig-reaksjonen. Et eksempel er trifenylenacylidenfosforans reaksjon med benzaldehyd som krevde reflux i 30 timer for å fungere. Den samme reaksjonen med HWE-reagensen dietylfenacylfosfonat anion var eksotermisk i romtemperatur og kunne vise til sammenliknbare utbytter.⁴⁵

Semisyntese av fettsyrer

PUFAer har blitt en viktig fysiologisk gruppe og de siste 70 årene har det vært stor fremgang for å kunne syntetisere disse produktene og deres derivater.⁴⁶ Tiltros for at den biologiske aktiviteten til PUFAene lenge har vært kjent, er det ikke problemfritt å syntetisere dem. Dette er pga. *Z*-skipped dobbeltbindinger i disse naturproduktene.^{47, 48} De vanligste metodene for å

syntetisere PUFAer er for det meste krysskoblingsreaksjoner mellom proargylhalider og et acetylid etterfulgt av en *Z*-stereoselektiv reduksjon,⁴⁶ og Wittig olefineringsreaksjon.⁴⁹

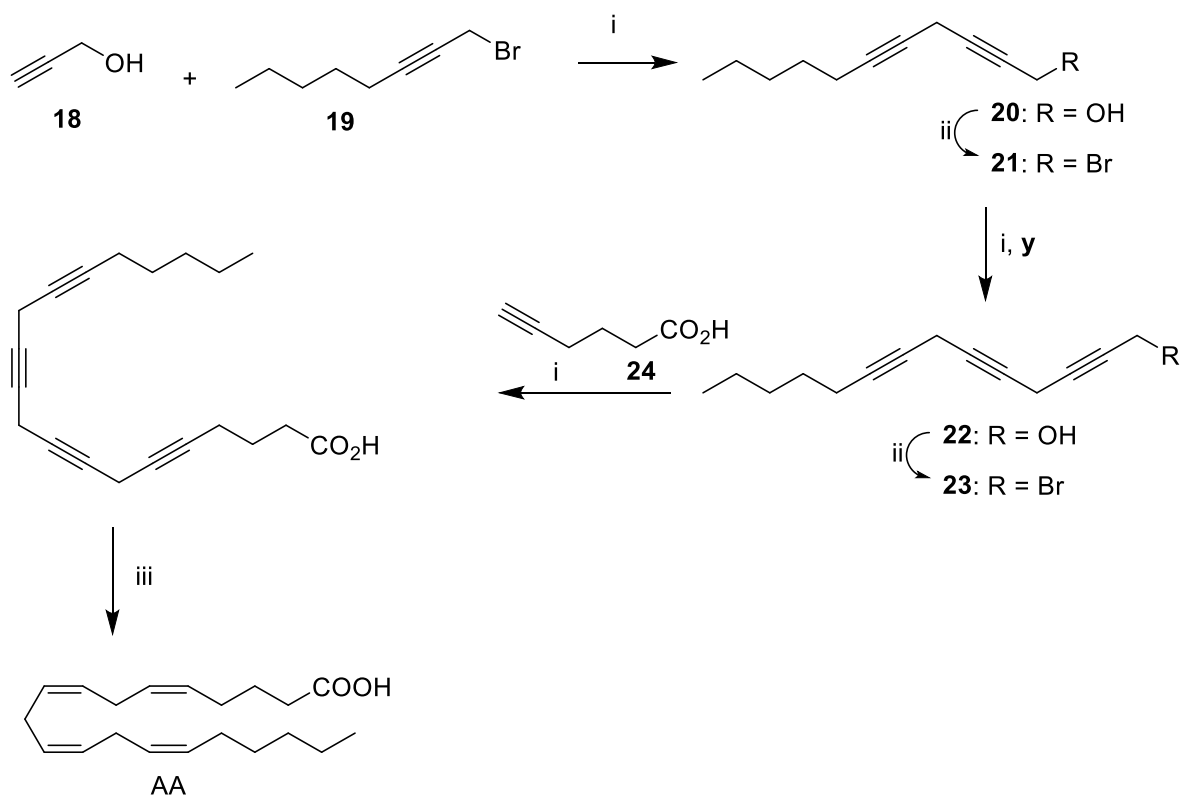
Den første totalsyntesen av en PUFA ble rapportert av Raphael og Sondheimer i 1950 og var av linolensyre (**5**). Syntesen besto først av en krysskoblingsreaksjon mellom propargylklorid og acetylid, deretter en *Z*-stereoselektiv partiell hydrogenering av diyn-systemet (skjema 15).⁵⁰



Skjema 15: Syntese av linolensyre av Raphael og Sondheimer. Reagenser: i: EtMgBr , Et_2O . ii: NaI , acetone. iii: $\text{NaCH}(\text{CO}_2\text{Et})_2$. iv: H_2 , $\text{Pd}(\text{CO}_3)_2$, EtOAc .⁵⁰

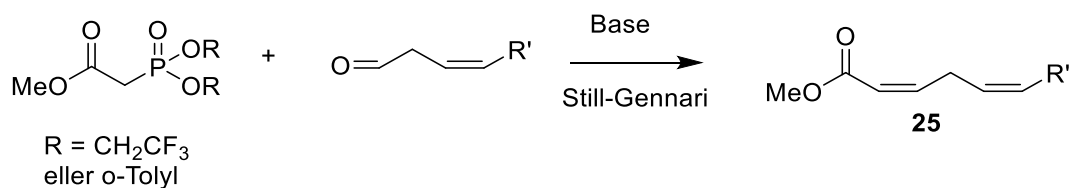
To år senere kom første rapport av en palladiumkatalysert reduksjon kalt Lindlar-reaksjon.⁵¹ Dette er en metode som favoriseres for å syntetisere *cis*-alkener⁵² og er bl.a. brukt til syntese av DHA og AA.⁵³ En ulempe med denne syntesemetoden er at den kan gi overreduksjon og dermed redusere alkynet helt ned til alkanet.⁵²

Et eksempel er syntesen av AA basert på alkylering av terminale alkyner med propargyliske elektrofile sammen med kobber(I)-salter via alkylmagnesiumhalider (skjema 16).⁵³



Skjema 16: Syntese av AA. Reagenser: i: EtMgBr, THF, CuCl; ii: PBr₃, Et₂O; iii: H₂, Lindlar katalysator

DHA og AA, sammen med EPA er viktige for forebygging av diverse sykdommer, deriblant Alzheimer. Disse fettsyrene har ofte blitt syntetisert av variasjoner av Wittig-reaksjonen.⁵⁴ Et eksempel på dette er Still-Genari reaksjonen. Fenylgruppene på fosforylidet er byttet ut med CH₂CF eller o-Tolyl som stereoselektivt gir Z-alfa, beta-umettede estere (**25**) fra alifatiske og aromatiske aldehyder (skjema 17).⁵⁵

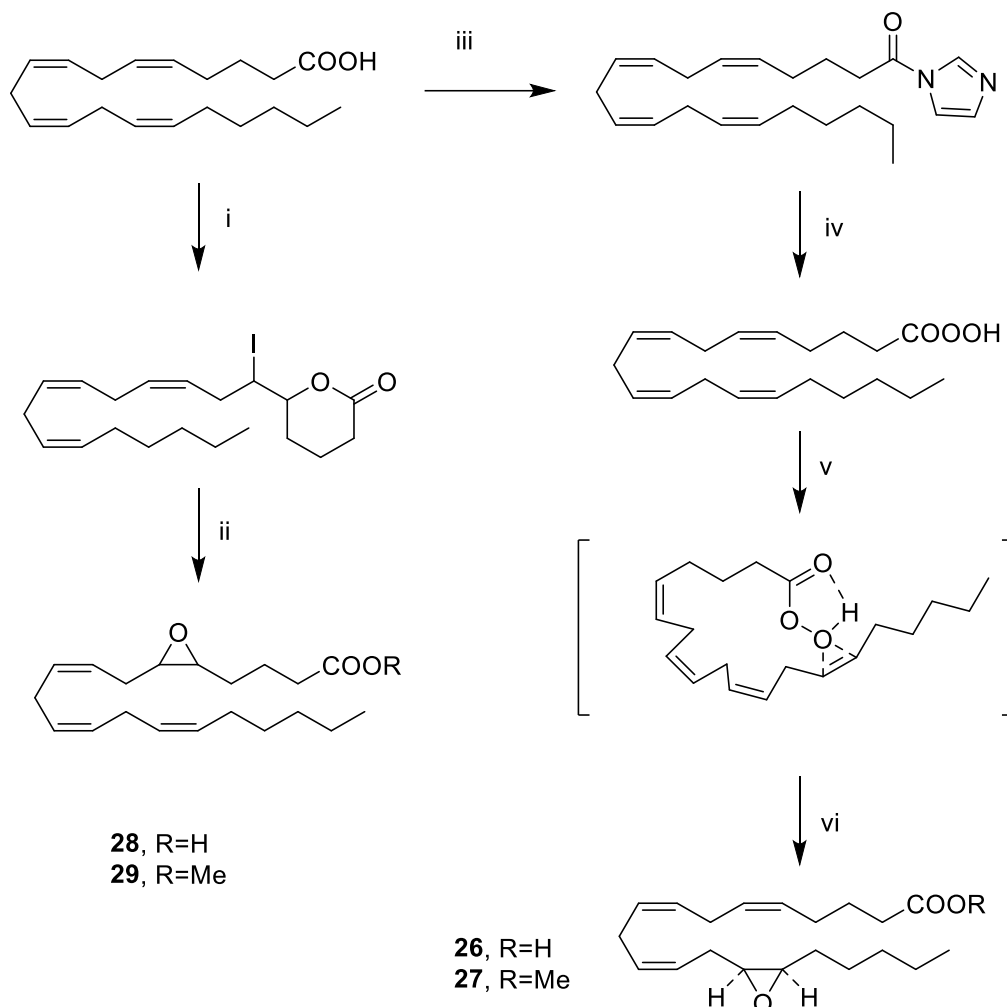


Skjema 17: Skjematisk visning av Still-Genari reaksjonen.⁵⁵

For å unngå en blanding av isomere har man foreslått og bruke kommersielle PUFA til semi-syntese for å sikre Z-geometri.⁵⁶

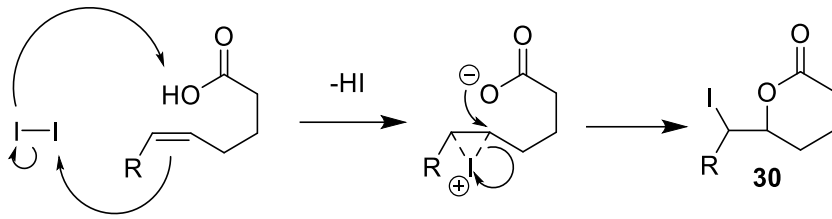
Blant de første til å utnytte metoden var Corey og medarbeidere. De brukte AA til å syntetisere to epoksider. I den første reaksjonen fikk AA først reagere til peroksidaracidonsyre

og videre til 14,15-epoksiarakidonsyre (**26**). Den andre reaksjonen ble det dannet et jodlakton for å gi 5,6-epoksiarakidonsyre (**28**) (skjema 18).⁵⁷



Skjema 18: Skjematisert visning av Coreys syntese av 5,6-epoksiarakidonsyre og 14,15-epoksiarakidonsyre. i: NUMMER ARAKIDONSYRE:THF:H₂O (1:7:1), KHCO₃, KI₃, 0-5°C i 3 dager. ii: NUMMER JODLAKTON, 0.2 M LiOH i THF:H₂O (3:2), 25°C i 3 timer. iii: AA, metylenklorid, karbonyldiimidazol, 25°C i 20 min. iv: NUMMER IMIDAZOLE, 0°C vannfri løsning av ~3.5 M hydrogenperoksid i eter, litiumimidazol. Omrøring 3 min, metylenklorid og vannfri KHSO₄ før omrøring i nye 3 min. v og vi: Sto i 20°C til NUMMER PEROKSISYRA hadde itramolekulært dannet NUMMER 14, 15 EPOKSIDET⁵⁷

I tillegg til å bruke kommersielle PUFA til semi-syntese, brukte Corey og medarbeidere jodlaktonisering for å isolere DHA og EPA fra fiskeolje. Denne metoden separerte samtidig de to PUFAene. Dette var viktig for å kunne undersøke EPA og DHA hver for seg. Metoden er selektiv for å danne γ-jodlakton (**30**) av DHA fremfor δ-jodlakton av EPA, noe som var forventet ettersom γ-jodlakton formes raskere og er mer stabilt.⁵⁸

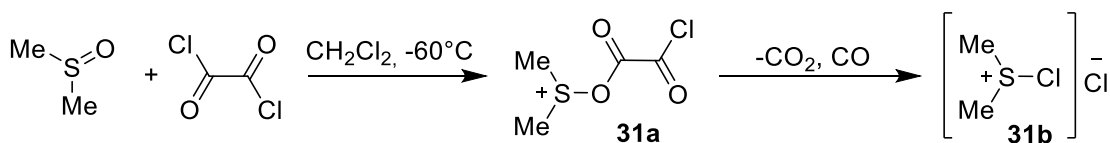


Skjema 19: Viser mekanisme for jodlaktonsiering av et δ -jodlaktone

Swern oksidasjon

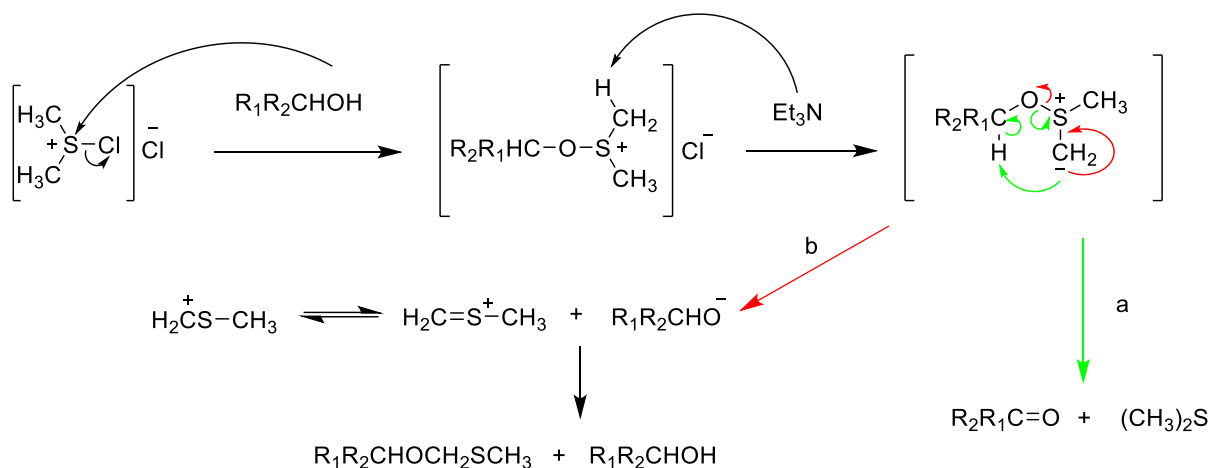
Swern oksidasjon er en mild oksidasjonsmetode for å danne karbonylgrupper fra alkoholer.⁵⁹ Reaksjonen tar i bruk dimetylsulfoksid (DMSO) aktivert av en elektrofil. Oksalylchlorid er med noen unntak den beste aktivatoren av DMSO, og gir selektiv oksidering av primære- og sekundære alkoholer til aldehyder og ketoner⁶⁰.

Ved romtemperatur vil oksalylchlorid og DMSO reagere eksplodivt og eksotermisk. Derfor blir denne reaksjonen gjort ved $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å danne intermediet **31** (skjema 20). Strukturen av intermediet **31** er ukjent men både **31a** og **31b** er mulige.⁶¹



Skjema 20: Viser aktivering av DMSO

Reaksjonen og mekanismer mellom aktivert DMSO og alkohol er vist i skjema 21. Base, typisk trietylamin (TEA), vil fjerne et proton fra saltet og danne ylidet. Dette gir reaksjonsvei a som ved en intramolekuler hydrogenoverføring vil danne ønsket karbonylgruppe og dimetylsulfid (**grønne piler**). Ylidet kan ved å danne en dobbeltbinding mellom anionet og svovel (**rød piler**) danne metylmetylsulfidion og et alkoksidion. Alkoksidionet kan ta et proton fra systemet og danne en alkohol eller reagere med sulfidet og danne alkylmetyltiometyleter. Det er reaksjonsvei a som er ønskelig ettersom det gir aldehyd/keton. Ved å øke lengden på R-gruppene vil svovelatomet være mindre tilgjengelig pga. sterisk hindring slik at basen favoriserer deprotonering av metylgruppene fremfor et nukleofilt angrep på svovelatomet som gir reaksjonsvei b.⁵⁹



Skjema 21: Reaksjonsforløp for oksidering av alkohol til aldehyd/keton

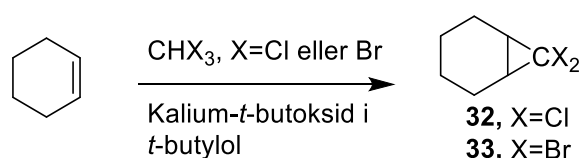
Makosza-reaksjon

Mackosza-reaksjonen er oppkalt etter den polske kjemikeren Mieczysław Małosza og er en type addisjonsreaksjon hvor et karben reagerer med et alken for å danne syklopropan.⁶²

Karbener ble antatt som intermediater for første gang i 1862. Da ble det foreslått at diklorkarbener ble brukt til alkalisk hydrolyse av kloroform.⁶³

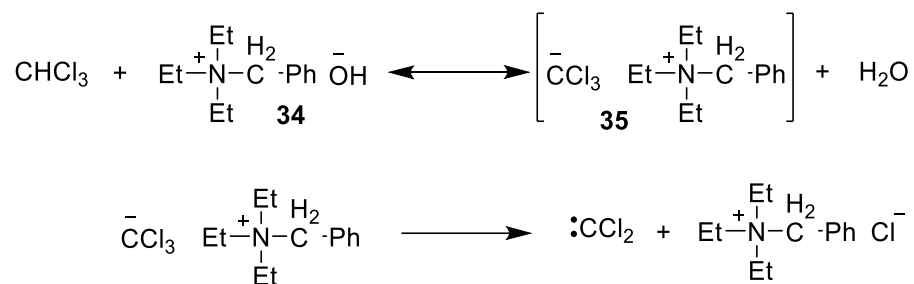
I 1954 utførte Doering og Hoffmann den første syklopropaneringen med karbener. Dette kom som en konsekvens på forsøket til Hine.⁶⁴ Tiltros for at Hines forsøk var konsekvent, var strukturen på produktet mulig å danne med mer enn en mekanisme. For å kunne støtte hypotesen til Hine bedre, ønsket Doering og Hoffmann å finne en reaksjon med base som kunne gi en pålitelig indikasjon på at diklorkarben var intermedietet basert på strukturen til sluttproduktet.⁶⁵

Resultatet ble en blanding av sykloheksen og tørr kalium-*tert*-butoksid i en løsning av *tert*-butyl alkohol. Blandingen ble kjølt ned og kloroform tilsatt dråpevis for å gi 7,7-diklorbisykloheptan (**32**). Den samme reaksjonen ble utført med bromoform for å gi dibrombisykloheptan (**33**), noe som ga bedre utbytte enn ved bruk av kloroform (skjema 22).⁶⁵



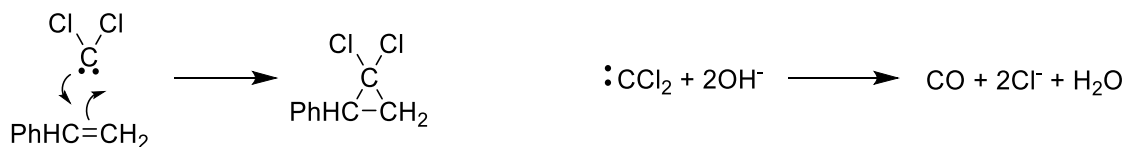
Skjema 22: Skjematisert visning av syntese av 7,7-diklorbisykloheptan og 7,7-dibrombisykloheptan

Makosza kom opp med en ny metode som involverte en reaksjon med olefin og kloroform i 50 % vandig NaOH med katalytiske mengder av trietylbenzylammoniumklorid (TEBA). Disse betingelsene er definert som Makosza-betingelser og motstrider tidligere forsøk ettersom man mente det måtte være et vanfritt miljø for å unngå hydrolyse av karbenet. Resultatene av forsøkene viste rundt 70 % utbytte og resultatene ble forklart med at TEBA i vandig miljø vil danne et hydroksid (**34**) som vil reagere med kloroform for å gi TEBA-triklormetylanion (**35**). Denne vil omgjøres for å gi diklorkarbenet samt TEBA-klorid.⁶²



Skjema 23: Viser reaksjon mellom kloroform og TEBA for å gi diklorkarben

Et eksempel på metoden er reaksjonen mellom diklorkarben og styren som er vist med forenklet mekanisme i skjema 24.⁶²



Skjema 24: Viser mekanisme for Makoszareaksjon mellom styren og diklorkarben. I tillegg reaksjon mellom diklorkarben og base

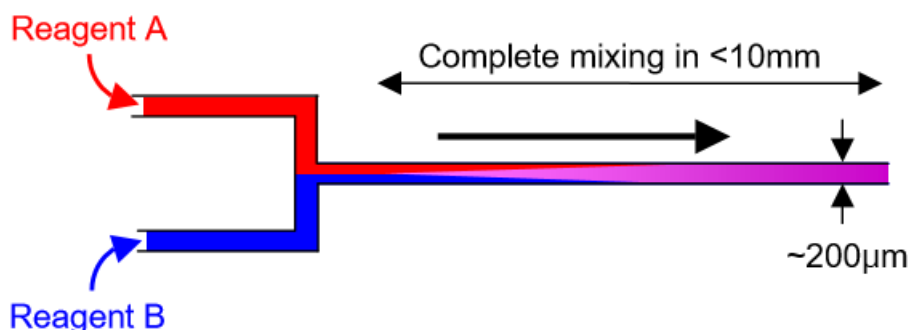
1.4 Flow-kjemi og mikroreaktor

Kontinuerlig flow-kjemi har blitt populært innenfor fundamental forskning. I motsetning til vanlig rundkolbekjemi har flow-systemer fordeler i forhold til bærekraft, effektivitet og trygghet.⁶⁶

Den enkleste formen for flow-kjemi er kontinuerlig strøm av reagenser inn i flow-systemet.⁶⁶ Reaktantene blir blandet i små kanaler som gir små diffusjonslengder og høyt volum til overflate forhold. Dette gir god kontroll på reaksjonen og vil bidra til økt selektivitet.¹

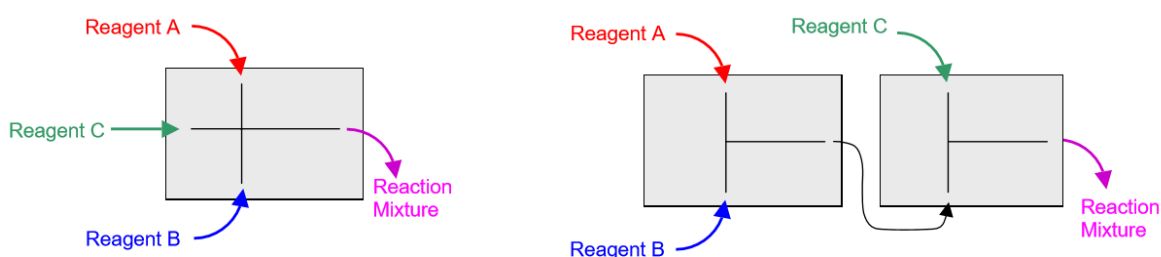
Mikroreaktor bruker ikke turbulens til å blande reagenser slik som rundkolbekjemi gjør. Istedenfor skjer blanding av reagenser ved diffusjon og selve reaksjonen vil skje i overflaten

mellom de to fasene. Denne prosessen vil kun ta sekunder ettersom reaktorkanalen kun er 200 μm bred (skjema 25).⁶⁷



Skjema 25: Skjematisk visning av mikroreaktor

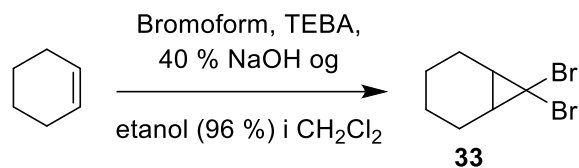
Normalt vil man i rundkolbekjemi tilsette reagenser etter hverandre, dette tiltros for at de kanskje burde vært tilsatt samtidig. I mikroreaktor kan opptil tre reagenser bli tilsatt reaksjonen samtidig, eller man kan koble flere reaktorer etter hverandre (skjema 26).⁶⁷



Skjema 26: Skjematisk visning av mulige måter å kjøre flow-systemer

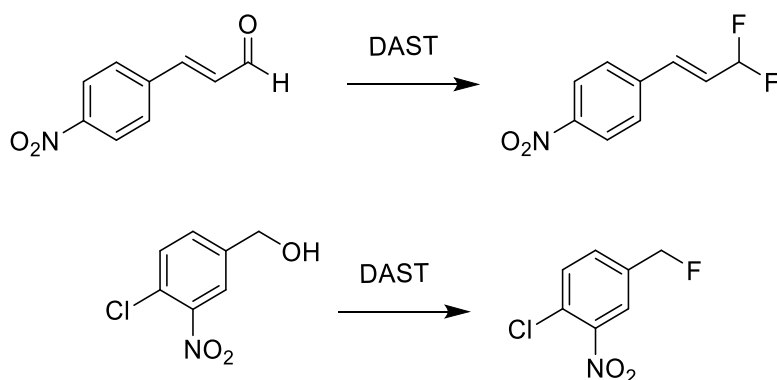
Ulempene ved bruk av mikroreaktor er at startmaterialer ofte eluderer sammen med produktene, og «quenching» og opparbeidelse er nødvendig. Det er utviklet flere forskjellige metoder for å optimalisere flow-systemer og per nå er det mest effektive en heterogen katalysator i en ferdigpreparert, såkalt «fixed-bed» reaktor. Denne typen reaktor reduserer inaktivering og tap av katalysator, og katalysatoren vil ikke kontaminere sluttproduktet.⁶⁶

Østby *et.al.* brukte sykloheksen som modell for deres første eksperiment for å danne syklopropan ved bruk av flow-kjemi. Dette med TEBA som faseoverførende katalysator og bromoform som karben-forløper i forhold 1:1.5:0.026 sykloheksen:bromoform:TEBA (skjema 27).¹

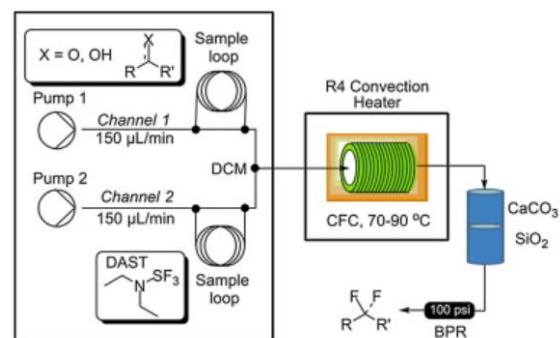


Skjema 27: Skjematisk visning av dibromosyklopropan fra heksen¹

Et annet eksempel på bruk av flow-kjemi er ved fluorinering. Dette er viktig fordi fluor kan forbedre molekylens egenskaper spesielt for metabolsk nedbryting i farmasøytiske og agrokjemiske systemer. Dietylaminosvovelfluorid (DAST) ble brukt som fluordonor for å konvertere alkoholer og karbonyl-grupper til de korresponderende fluorderivatene. Skjema 28 viser eksempler på molekyler som ble brukt og skjema 29 viser oppsette av mikroreaktoren.⁶⁸



Skjema 28: Skjematisk visning av eksempler på fluorinering av et aldehyd og alkohol⁶⁸

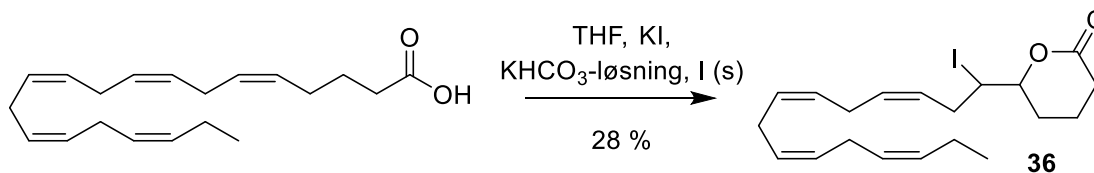


Skjema 29: Skjematisk visning av oppsette for forsøket⁶⁸

2. Resultater og diskusjon

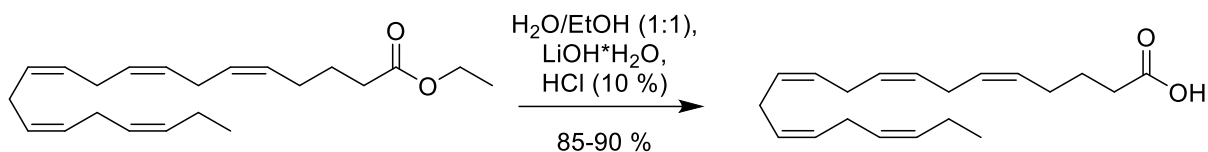
2.1 Syntese for 5S,6S-dihydroksyeikosapentansyre

Strategien startet og sluttet med syntesen jodlaktone **36** fra etylestere av EPA. Utførelsen ble gjort på to forskjellige måter, en prosedyre av Langseter *et.al.*⁶⁹ og en prosedyre av Corey *et.al.*⁵⁸



Skjema 30: Viser syntesen av jodlakton (36) fra EPA

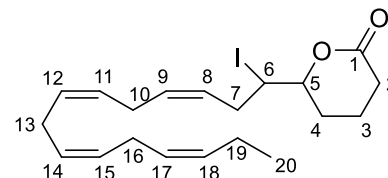
EPA var startmaterialet for prosedyren til Corey *et.al.* og dette ble syntetisert fra EE-EPA etter en modifisert versjon av Langseters prosedyre. EPA ble syntetisert med utbytte på mellom 85-90 %.



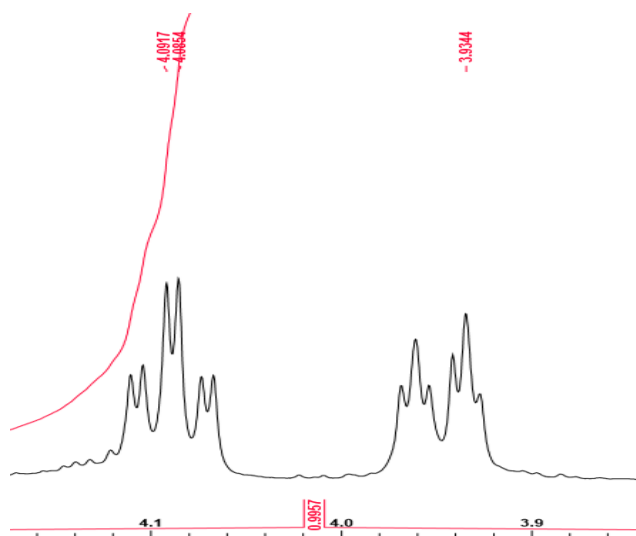
Skjema 31: Viser syntesen av EPA fra EE-EPA

Proseduren til Corey *et.al.* ble utført fire ganger. Til denne syntesen ble det laget to partier med EPA. Det første partiet ga utbytter av **36** på henholdsvis 16 og 20 %. Det andre partiet med EPA ga jodlakton med utbytter på 28 og 6.5 %.

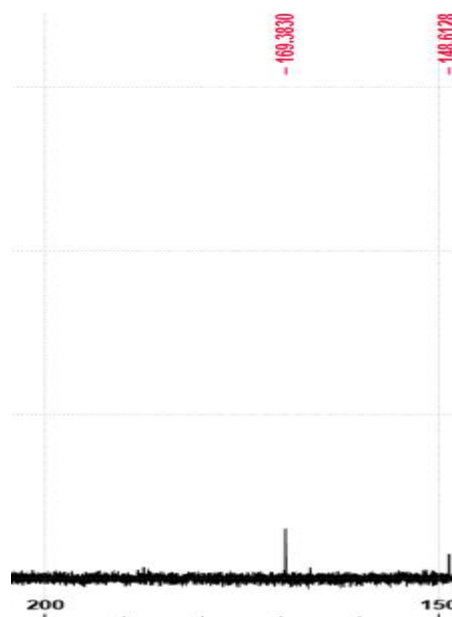
Karakteristiske resonanser for **36** kan man blant annet se i ^{13}C -NMR-spekteret med signalet på 169 ppm. Dette er indikasjon på at det er blitt dannet et syrederivat som normalt har resonanser rundt 170 ppm. I tillegg er det to topper i ^1H -NMR-spekteret på 4.09 og 3.93 ppm (1H) som indikerer protonene som sitter på karbon 5 og 6 (figur 11).



Figur 11: Viser strukturen for jodlakton (36)



Figur 12: Viser protonsignalet for protonene bundet til karbon 5 og 6 i $^1\text{H-NMR}$



Figur 13: Viser $^{13}\text{C-NMR}$ av jodlakton **36** og signalet på 169 ppm

Tiltros for at spektrene viser at jodlaktonet etter all sannsynlighet har blitt dannet, var det også topper som tyder på forurensing. I $^{13}\text{C-NMR}$ vil det være forventet kun åtte karboner i området 100-150 ppm, men her er det fremdeles 10. Dette tyder på forurensing fra EPA som da ikke har blitt fjernet med silikakolonne.

En forklaring på de dårlige utbyttene var at mye av produktet gikk tapt under opparbeidelsen ved bruk av metoden til Corey *et.al.*⁵⁸ Opparbeidelsen ble derfor endret fra tilbakeekstraksjon til bare vask med vann og konsentrert NaCl-løsning. Endringen ga ikke bedre resultater, og **36** ble ikke observert etter endringen ble gjort.

De varierende resultatene kan skyldes at reaksjonene ble gjort på en mindre skala og mengden EPA var aldri den samme i forsøkene slik at de andre reagensene ikke ble justert nok i forhold til mengden EPA brukt i forsøket.

Fordi utbyttene ikke var tilfredsstillende og veldig varierende ble prosedyren endret til å følge metoden til Langseter *et.al.*⁶⁹ Denne metoden ble prøvd ut fem ganger uten suksess. Denne metoden ble brukt av flere personer samtidig og ingen fikk gode resultater. Antakelsen ble at kjemikaliene var gått ut på dato.

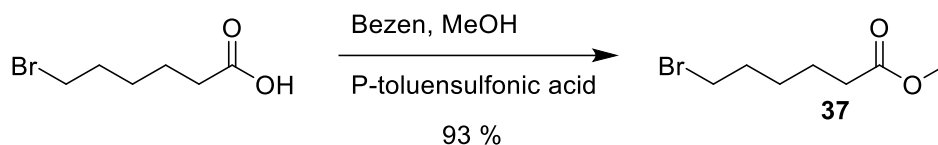
2.2 Syntese av svovelprodukter

Sulfolenforbindelsen

Syntesen av **67** var en fortsettelse på arbeidet til Skiaker³ som produserte en liknende fettsyre med C-8 sidekjede over C-6. Denne reaksjonen fungerte ikke pga. oksidasjon av sulfidet, og derfor skulle det her bli forsøkt med en C-6 sidekjede og olifinering.

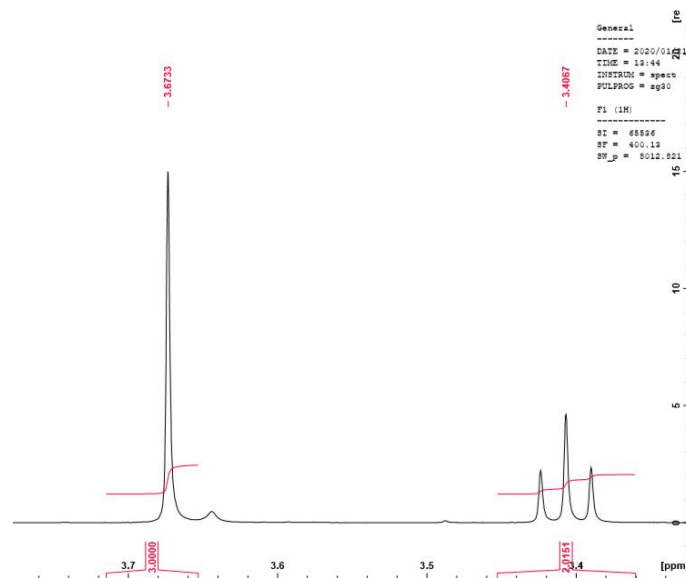
Første steget var å syntetisere esteren **37** som skulle adderes på 3-metyl-3-sulfolen. Her ble først 6-bromheksansyre esterifisert til **37**. Dette ble gjort ved bruk av to metoder. Den første var en metode av Perlikowska og Mikołajczyk⁷⁰ og den andre var en metode brukt i nevnte Skiakers masteroppgave.³ Metoden til Perlikowska og Mikołajczyk ga et kvantitativt utbytte (93 %), men tok lang tid pga. reflux i to døgn for deretter opparbeidelse.

Den andre metoden ble tatt i bruk fordi den var lettere å gjennomføre og tok kortere tid. Her sto løsningen med 6-heksansyra under reflux i 3.5 time i motsetning til to døgn for deretter under omrøring til dagen etter. Fordelen var åpenbart at det tok kortere tid, men utbytte (67 %) var ikke like godt som metoden til Perlikowska og Mikołajczyk.



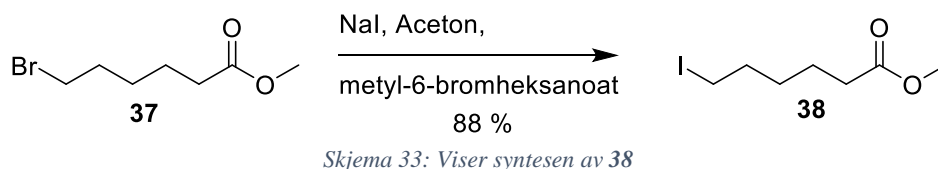
Skjema 32: Viser syntesen av **37**

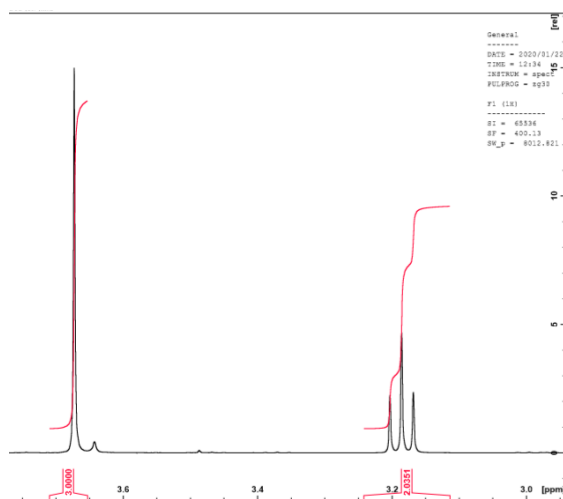
Karakteristiske resonanser for **37** er i ¹H-NMR med singletten på 3.67 ppm som indikerer metylgruppa på esteren. I ¹³C-NMR er det en topp på 174 ppm som sannsynlig indikerer ester ettersom syrer normalt er nærmere 180 ppm.



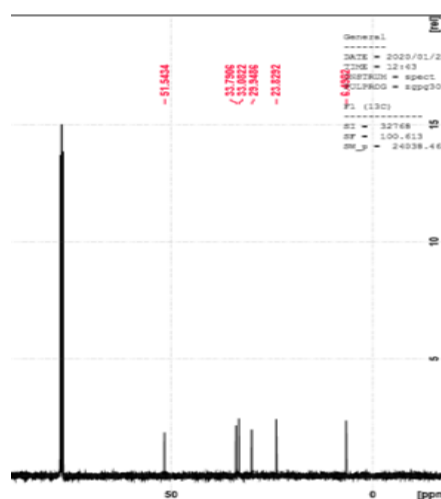
Figur 14: Viser ^1H -NMR-utsnitt for **37** for singletten ved 3.67 ppm

Det neste steget i syntesen var å substituere av brom med jod for å gi esteren **38**. Reaksjonen ga et utbytte på 88 %. De spektrale dataene er ganske like for **38** som for **37**. Den største forskjellen kan man se i ^1H -NMR-spekteret hvor tripletten på 3.40 ppm (2H) for **37** har sunket ned til ca. 3.2 ppm. Dette var forventet ettersom jod er mindre elektronegativt enn brom. I tillegg kan man i ^{13}C -NMR-spekteret se en topp på 6.4 ppm som er karbonet jodatomet er koblet til.



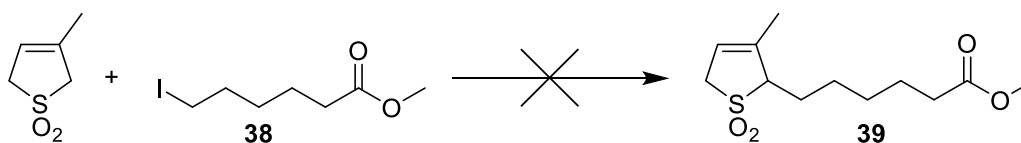


Figur 15: Viser ^1H -NMR for **38** og signalet for de to protonene som sitter på karbonet med jodatomet



Figur 16: Viser ^{13}C -NMR for **38** og signalet på 6.4 ppm

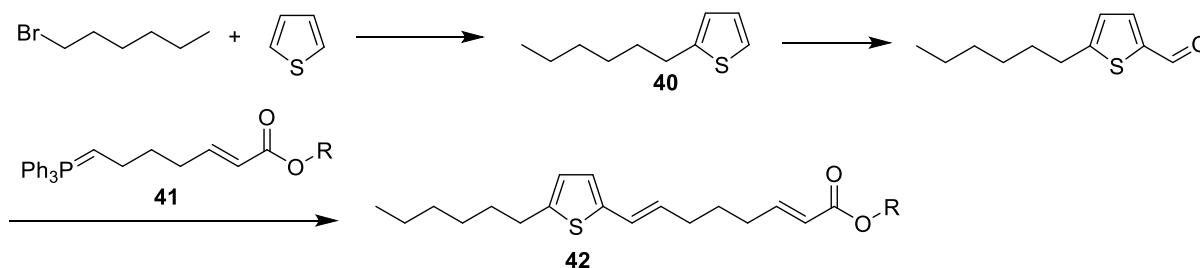
Videre skulle jodesterer **38** reagere med 3-metyl-3-sulfolen og danne metyl-6-(3-metyl-3-sulfolene-2-yl)-heksanoat **38**. Denne prosedyren er basert på det publiserte arbeidet til Tao *et.al.*⁷¹ Metoden ble forsøkt to ganger hvor kun reaktanter ble observert. 3-metyl-3-sulfolenen hadde i utgangspunktet en brunaktig farge, men etter forsøk på denne syntesen ble den observert som et hvitt pulver. På grunn av fargeendringen ble forsøket gjennomført en gang ekstra med bruk av det «rensede» 3-metyl-3-sulfolen uten at det forbedret resultatet.



Skjema 34: Skjematisk visning av den forsøkte synteseveien for **39**

Tiofenforbindelsen

Målmolekylet **67** skulle bli syntetisert via mellomproduktet **42**.



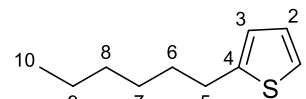
Skjema 35: Viser synteseveien for å danne mellomproduktet **42**

Det første steget var syntesen av 2-heksyltiofen **40** var basert på arbeid av Belletête *et.al.*⁷²

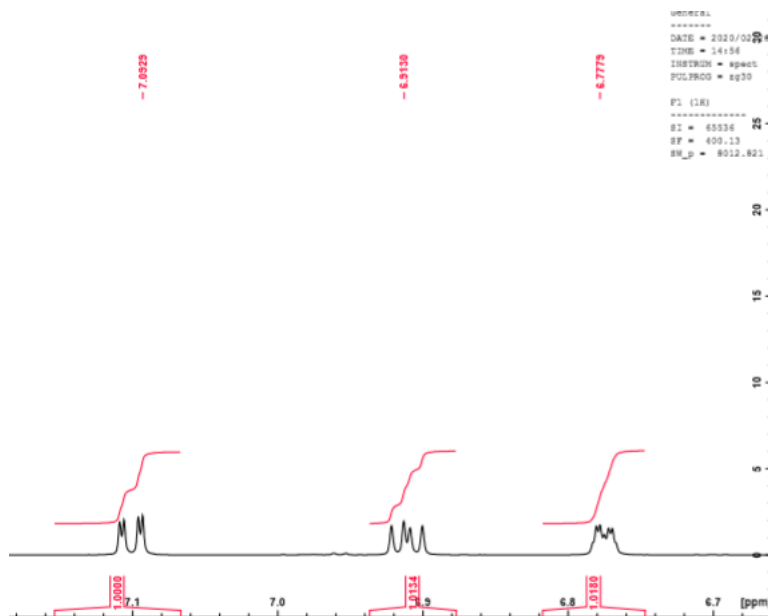
Reaksjonen ga utbytte på 21 % mot 57 % oppgitt i litteraturen. Spektrale data stemte overens

med rapporterte data. Denne reaksjonen ble gjort to ganger pga. lekkasje i destillasjonsoppsette ved første rensing. Det lave utbytte kan skyldes at det også på runde to var lekkasje i systemet slik at produktet fordampet.

Karakteristiske resonanser for **40** i ^1H -NMR er de to dublettene på 7.09 (1H) og 6.77 (1H) ppm samt tripletten på 6.91 (1H) ppm. Disse signalene viser til den substituerte tiofenringen. I ^{13}C -NMR viser toppene på 126, 124 og 122 ppm tre av fire karboner i tiofen ringen. Karbonene merket 2 og 3 (figur 12) er ganske like og er antakelig så tett på hverandre i ^{13}C -NMR-spekteret at de kommer som en topp.

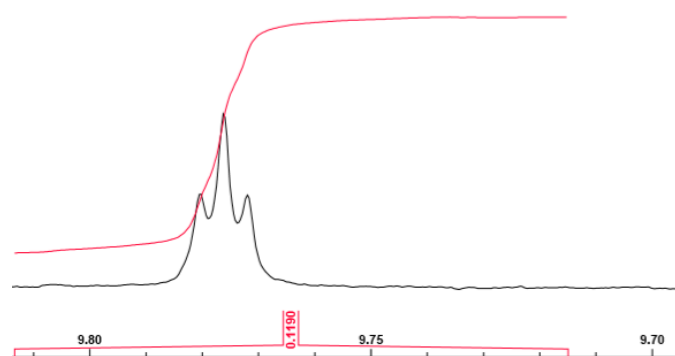


Figur 17: Viser strukturen til **40**

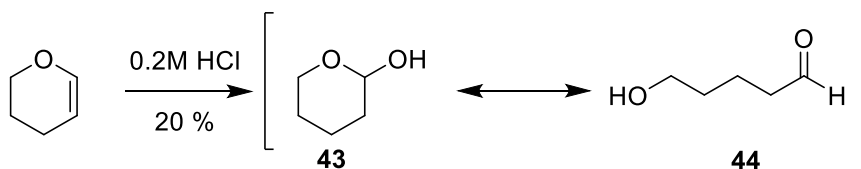


Figur 18: Viser ^1H -NMR-utsnitt for **40** og de tre signalene for protonene i tiofenringen

Wittig-reagenset skulle syntetiseres fra Pyran, og første steget var å danne det sykliske hemiacetalet **43** etter metode basert på arbeidet til Sokolsky *et.al.*⁷³ Utbytte var 20 % mot 61 % som var oppgitt i litteraturen. ¹H-NMR-spekteret var litt uklart ettersom det viste en tripplett ved 9.77 ppm som indikerer aldehyd. Dette var fordi **43** eksisterer i likevekt med den åpne kjeden **44**.



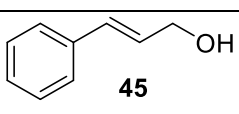
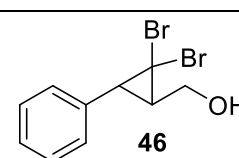
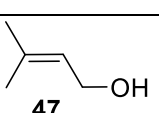
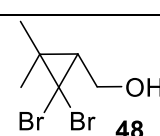
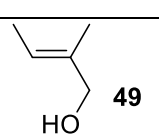
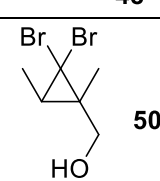
Figur 19: Viser ¹H-NMR-utsnitt for **43** og signalet på 9.77 ppm

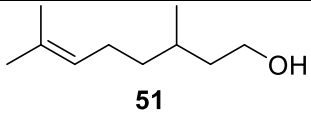
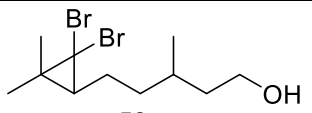
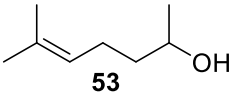
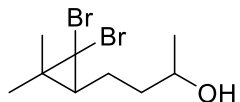
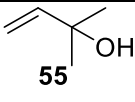
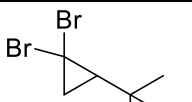
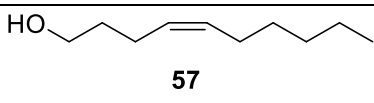
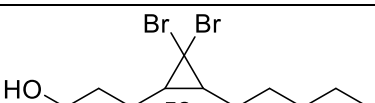
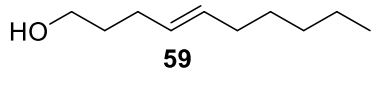
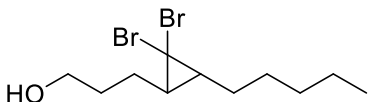
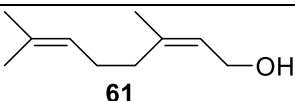
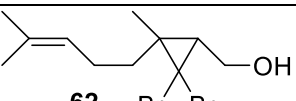
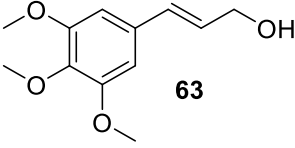
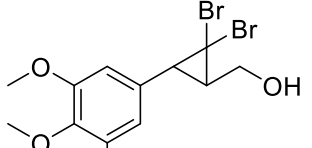


Skjema 36: Skjematisk visning av syntesen av **43** og likevekten mellom **43** og **44**

Mikroreaktor

Resultatene for forsøket er vist i tabellen nedenfor.

Reaksjon nummer	Substrat	CHBr ₃ ekvivalent	Produkt	Utbytte (%)	Litt. Utbytte (%)
1	 45	2	 46	-	-
2	 47	2	 48	74	36 ⁷⁴
3	 49	2	 50	62	45 ⁷⁵

4		2		57	-
5		2		77	-
6		2		-	-
7		2		-	-
8		2		-	-
9		2		-	-
10		2		-	-

Tabell 1: Viser resultatene for dannelse av syklopropaner ved mikroreaktor

Alle reaksjonene gjort med mikroreaktor fulgte oppsette til det publiserte arbeidet av Østby *et.al.*¹ Alle reaksjonene i denne seksjonen er en del av et nylig publisert arbeid rundt temaet (vedlegg 6.3).²

Syklopropanene **46** og **64** var de hovedmålet med denne delen av oppgaven. Her ble det gjort tre forsøk på å syntetisere **46** fra alkenet **45** uten at det ønskede produktet med observert.

Som følge av at **46** ikke ble dannet ble det gjort et forsøk på å lage **64**. Alkenet **63** ble syntetisert etter det publiserte arbeidet til Wang *et.al.*⁷⁴ til et kvantitativt utbytte (91 %). Ved forsøk på syntese av **64** ble det ikke observert noe produkt.

Syklopropanen **48** ble observert med et utbytte på 74 % og ble oppnådd som en del av det publiserte arbeidet til Østby *et.al.*² I denne masteroppgaven ga syntesen et utbytte på 71 % og er dermed helt på linje med det som er funnet tidligere. Disse resultatene er en stor forbedring fra de oppgitt i litteraturen (36 %).⁷⁶ ¹H-NMR-spekteret viser en singlet på 5.3 ppm og en

kvartett på 4.12 som indikerer rester av diklormetan og etylacetat. Utenom det er produktet ganske rent ettersom det ikke er noen triplett i området 5.2-5.7 ppm som er det forventede området for alkenet dersom det hadde vært reaktanter tilstede. Tiltros for at produktet ser rent ut utenom løsemidler kan man observere en liten topp på 129 ppm i ^{13}C -NMR-spekteret som tilsier at det kan være rester av reaktanten som ikke ble fjernet på silikakolonnen.

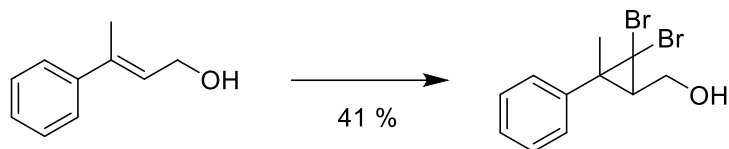
Syntesen av syklopropanen **50** ga et utbytte på 62 % og ble oppnådd som en del av det publiserte arbeidet til Østby *et.al.*² Sammenliknet med 45 % oppgitt i litteraturen var dette en forbedring.⁷⁵ For masteroppgaven ble syntesen av **50** også gjennomført til et utbytte på 13 %. I NMR-spektrene for denne forbindelsen kan man også her observere forurensinger i form av diklormetan og etylacetat, og en eventuell triplett på 5.2-5.7 ppm som indikerer alkenet er ikke i spekteret.

Syklopropanen **52** ble observert med utbytte på 55 % som er i likhet med resultatene som ble oppnådd i det publiserte arbeidet til Østby *et.al.*² Det er også her urenheter ettersom det i ^{13}C -NMR-spekteret har to små signaler ved 131 og 124 ppm som indikerer noen alkenrester. I ^1H -NMR er det derimot ikke tegn til noen protoner i alkenområdet som tyder på at syklopropanen er blitt dannet.

Syklopropanen **54** ble observert med et utbytte på 77 % og er helt på linje med det som er oppgitt i det publiserte arbeidet til Østby *et.al.*² Også her kan man se forurensing av reaktanten i ^{13}C -NMR-spekteret, og det samme i ^1H -NMR-spekteret som viser en multipllett på ca. 5.15 ppm. Fordi denne toppen er såpass liten er mesteparten den ønskede syklopropanen **54** men ikke helt rensset gjennom kolonnen.

Det ble ikke registrert dannelse av de resterende syklopropanene **56**, **58**, **60** og **62**. Basert på en artikkel publisert av Skell og Garner (1956) var disse resultatene forventet. Artikkelen viser en trend som favoriserer dannelse av syklopropaner med dibromkarben fra korte karbonkjeder.⁷⁷ Dette favoriserer ikke **58** og **60** som begge består av en kjede av 10 karboner.

I tillegg vises det til en trend som øker reaktiviteten for dannelse av syklopropaner med flere elektron-donerende sidegrupper som f.eks. metylgrupper.⁷⁷ Dette kan være forklaringen på hvorfor **48**, **50**, **52** og **54** fikk gode resultater, mens de resterende syklopropanene ikke ble observert. Den publiserte artikkelen til Østby *et.al.*² viser flere forsøk med benzensubstituent, men den eneste som kunne vise til et utbytte var den metylsubstituerte av kanelalkoholen (skjema 37). Dette underbygger teorien om at reaktiviteten øker med antal metylsubstituent.



Skjema 37: Viser syntesen av den metylerte kanelalkoholen

3. Konklusjon og videre arbeid

Prosedyrene som ledet opp til jodlaktonet **36** var kjent fra før, men resultatene gav ikke utbytter som var sammenliknbare med litteraturen. Basert på at denne metoden er optimalisert for å separere DHA fra EPA via et jodlaktone og ikke syntetisere jodlaktone av EPA var resultatene forventet. Det største utbytte på 28 % etter bruk av Corey *et.al.*⁵⁸ var ikke godt nok til å kunne gå videre til de neste stegene av syntesen. På grunn av dårlige kjemikalier ble arbeidet mot 5*S*,6*S*-dihydroksyeikosapentansyre stoppet.

Syntesene av bromesteren **37** og jodesteren **38** var kjente og gav utbytter på nivå med litteraturen. Dannelsen av sulfolenen **39** ble ikke observert og var heller ikke kjent i litteraturen fra før. For arbeidet videre vil det å klare å addere **38** til 3-metyl-3-sulfolen være hovedfokus. Om man ikke optimaliserer betingelsene for selve reaksjonen kan en løsning være å prøve med en kortere jodester for deretter å ha en lenger karbonkjede på HWE-reagenset i et av de senere stegene i syntesen for å oppnå riktig antall karboner.

Syntesen av tiofenen **40** var kjent fra før og utbytte på 21 % var ikke på samme nivå som oppgitt i litteraturen. Det samme gjaldt syntesen av sidegruppa **43** som kun ble gjort en gang med et utbytte på 20 %. Denne syntese-strategien ble avsluttet pga. coronavirus, noe som var upraktisk ettersom de første resultatene var såpass positive. Arbeidet videre ville vært å fortsette på denne syntese-strategien nettopp fordi de første stegene ga utbytter det var mulig å jobbe med.

Syntesen av syklopropaner med mikroreaktor var suksessfull. Blant syklopropanene som hadde et utbytte var det **48**, **52** og **54** kjent i litteratur fra før og utbyttene var på samme nivå som oppgitt i litteraturen. Syklopropanen **50** var også tidligere nevnt i litteratur men utbytte var ikke på samme nivå som oppgitt. På grunn av løsemiddel i de mest flyktige forbindelsene ble utbyttene estimert ved bruk av NMR.

De resterende syklopropanene ble det ikke observert noe produkt, men blant disse ble det gjort en MS som kunne identifisere dannelse av syklopropanen **65** fra **57**. Dermed er det også

en mulighet for at noen av de andre reaksjonene har gitt andre produkter, men ikke akkurat de ønskede syklopropanene. Ettersom de to alkenene **45** og **63** var det originale hovedfokuset for dette prosjektet vil det være fornuftig og teste varianter av **63** med andre grupper på benzenringen enn metoksi-gruppene for å se om resultatet bedres.

Resultatene for dannelse av syklopropaner var delvis forventet. På grunn av tidligere utgitte resultater var det forventet at de mest reaktive alkenene er de med flere metylsubstituenten og korte karbonkjeder, noe som også var tilfelle i denne oppgaven.

4. Eksperimentelt

Generelle bemerkninger

Tynnsjikt-kromatografi ble utført med tynnsjiktplater av typen Merck TLC silica gel 60 F₂₅₄ og ble fremkalt med kaliumpermanganat.

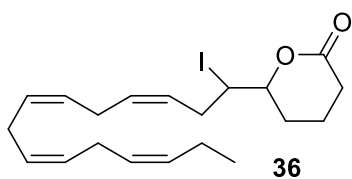
Rensing av forbindelser ble utført med kolonnekromatografi hvor stasjonærfase var Merck silica gel 60 (0.040 – 0.063 mm).

NMR-spektre ble tatt opp ved bruk av instrumentet Bruker Ascend 400, ved 25 °C og 400 MHz (¹H NMR) eller 100 MHz (¹³C NMR)), med CDCl₃ som løsemiddel.

Alle reaksjoner er gjort under nitrogenfase om ikke annet er spesifisert i metoden.

4.1 Jodlaktonisering

Syntese av tetrahydro-6-((3Z,6Z,9Z,12Z)-1-jodpentadecatetryl)pyran-2on



Metode 1

Etylesteren av EPA (2.5 g, 7.5 mmol) ble satt til en rundkolbe med vann (7.5 mL) og EtOH (7.5 mL). LiOH * H₂O (1.6 g, 37.5 mmol) ble tilsatt løsningen og rørt om under nitrogenfase i 24 timer. Løsningen ble kjølt ned på isbad og tilsatt vann (22.5 mL) og deretter surgjort med HCl (10 %). Diklormetan (20 mL) ble så tilsatt løsningen og overført til skilletrakt. Fasene ble skilt og vannfasen ekstrahert med diklormetan (3 x 20 mL). De samlede organiske fasene ble tørket med Na₂SO₄ og konsentrert i vakuum. Dette ga EPA som en gul olje.

Denne neste delen av prosedyren er utført i henhold til Corey og medarbeidere.⁵⁸

I en trehalset rundkolbe ble EPA (1 g, 3.3 mmol) satt til THF (33 mL). Kaliumjodid (0.75g, 4.79 mmol) og Kaliumbikarbonat (2.25 g, 22.5 mmol) i 25 mL vann ble tilsatt under omrøring. Etter 10 min ble jodid (1 g, 7.9 mmol) satt til løsningen før den sto under omrøring for 48 timer ved romtemperatur. Reaksjonen ble stoppet ved å tilsette en blanding av kaliumbikarbonat (17.3 g, 157 mmol) og Natriumsulfitt (1.01 g, 8.1 mmol) i vann (60 mL). Den organiske fasen ble ekstrahert med etylacetat (2 x 25 mL) og konsentrert i vakuum.

Utbytte: 800mg (1.87 mmol), 28 %

Metode 2

Denne metoden ble utført i henhold til det publiserte arbeidet til Langseter *et.al*⁶⁹

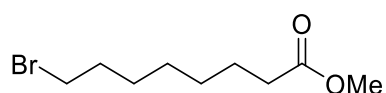
Etylesteren til EPA (5.0 g, 15 mmol) ble overført til en rundkolbe sammen med en løsning med vann (15 mL) og EtOH (15 mL). Reaksjonsblandingen ble så tilsatt LiOH x H₂O (3.2 g, 75mmol) og sto under omrøring i 4 timer i rt.

Vann (45 mL) ble så overført til blandingen for så å bli kjølt ned på isbad (0°C). En mettet løsning av KHCO₃ (5.0 mL) og 57 % HI (10 mL) ble så tilsatt under omrøring. Videre ble pH justert til ca. 8 ved bruk av mettet løsning av KHCO₃ og kontrollert på pH-papir. Fast I₂ (11 g, 45 mmol) ble løst i THF og tilsatt dråpevis til reaksjonsblandingen ved bruk av en dryppetrakt. Reaksjonsblandingen ble flushet med N₂ og satt på kjølerom under omrøring i 48 timer.

Etter 48 timer ble reaksjonen stoppet ved å tilsette en mettet løsning med Na₂S₂O₃ (50 mL). Fargen gikk fra mørk brun til en lys, blakkert gul. Produktet ble ekstrahert med heksan (3x25 mL) og deretter vasket med en mettet NaCl-løsning (2x50 mL). Organisk fase ble tørket med Na₂SO₄, filtrert og konsentrert under vakuum til en gul/brun olje.

4.2 Synteser for svovelfettsyrene

Syntese av metyl-8-bromoktanoat



Metode 1

Syntesen ble utført etter arbeidet til Skiaker.³

8-bromoktansyre (2.0g, 8.9 mmol) ble løst i metanol (10 ml, 0.25 mol) og svovelsyre (2 ml) ble tilsatt. Blandingen ble under omrøring varmet opp og refluxert i 3,5 time. Deretter ble varmen fjernet og løsningen sto under omrøring i 20 t. Løsningen ble konsentrert i vakuum og råoljen ble løst i eter (10 ml) og deretter vasket med vann (3x5 ml), mettet NaHCO₃-løsning (5 ml) og mettet NaCl-løsning (5 mL). Organisk fase ble tørket (MgSO₄), filtrert og konsentrert i vakuum til en blank olje. Råoljen ble rensset med kolonnekromatografi (silika, heksan:EtOAc 7:3)

Utbytte: 1.44 g (6.07 mmol), 67 %

Rf: 0.95 (Heksan:EtOAc 7:3)

Metode 2

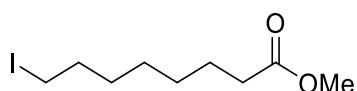
Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeidet til Perlikowska og Mikołajczyk⁷⁰

8-bromoktansyre (5.0 g, 22.4 mmol) og fast *p*-toluensvovelsyre (0.22 g, 1.16 mmol) ble tilsatt en rundkolbe med vannfri benzen (20 mL) og metanol (1.8 mL, 44.8 mmol) ved rt. Løsningen sto under omrøring og reflux i 2 dager med azeotrop fjerning av vann. Løsningen ble så konsentrert under vakuum til en brunaktig råolje. Råoljen ble rensset med silikakolonne. Spektrale data er i overensstemmelse med litteraturen.

Utbytte: 5.4 (0.023 mol) g, 93 %

Rf: 0.95 (Heksan:EtOAc 7:3)

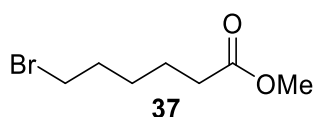
Syntese av metyl-8-jodoktanat



Til en løsning av NaI (2.71 g, 18.1 mmol) i aceton (80 mL) under nitrogenatmosfære og omrøring ble metyl-8-bromoktanat (1.44 g, 6.07 mmol) tilsatt. Løsning sto 1 t under omrøring i romtemperatur før den ble refluxert i 45 min. Blandingen ble deretter filtrert og konsentrert i vakuum. Dette ga oransje fast stoff. Dette ble videre løst i heksan (30 mL) og vasket med vann (3x15 mL), Mettet NaCl-løsning (1x15 mL) og mettet Na₂S₂O₃-løsning (1x15 mL). Organisk fase ble tørket (MgSO₄), filtrert og konsentrert i vakuum til en gul råolje

Utbytte: 2.15 g (7.57 mmol), 88 %

Syntese av metyl-6-bromheksanoat



Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeidet til Perlikowska og Mikołajczyk⁷⁰

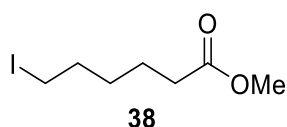
6-bromheksansyre (5.0 g, 25.7 mmol) og *p*-toluensvovelsyre (0.22 g, 1.16 mmol) ble tilsatt en rundkolbe med anhyd benzen (20 mL) og metanol (1.8 mL, 44.8 mmol) ved rt. Løsningen sto under omrøring og reflux i 2 dager med azeotrop fjerning av vann. Løsningen ble så konsentrert under vakuum til en brunaktig råolje. Råoljen ble rensset med kolonnekromatografi (silika, heksan:EtOAc 7:3) til en blank råolje. Spektrale data er i overensstemmelse med litteraturen⁷⁰.

Utbytte: 5.0 g (0.024 mmol), 93 %

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): δ 1.47 (m, 2H), 1.65 (m, 2H), 1.87 (m, 2H), 2.33 (t, 2H), 3.40 (t, 2H), 3.67 (s, 3H) ¹³C-NMR (101 MHz) δ 174.0, 51.6, 33.9, 33.7, 32.5, 27.7, 24.2.

Rf: 0.75 (heksan:EtOAc 7:3)

Syntese av metyl-6-jodheksanoat

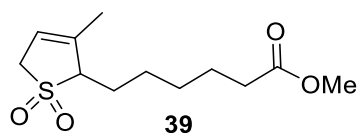


Metyl-6-bromheksanoat (2 g, 10 mmol) i aceton (90 mL) ble under omrøring tilsatt NaI (3.82 g, 25.5 mmol). Løsning sto 1 t under omrøring i rt. før den ble refluxert i 45 min. Blandingen ble deretter filtrert og konsentrert i vakuum. Dette ga oransje fast stoff som smeltet i løpet av natten i rt. Dette ble videre løst i heksan (2x20 mL) og overført til skilletrakt. Rundkolben ble så skylt med vann (15 ml) og tilsatt skilletrakten som ga en gul vannfase. Tilslutt ble det tilsatt Na₂S₂O₃ tilsatt skilletrakten og vannfasen ble blank. Organisk fase ble vasket med vann (3x15 mL), Mettet NaCl-løsning (1x15 mL) og mettet Na₂S₂O₃-løsning (1x15 mL). Organisk fase ble tørket (MgSO₄), filtrert og konsentrert i vakuum til en gul råolje. Spektrale data stemte overens med litteraturen.⁷⁸

Utbytte 2.15 g (8.39 mmol), 88 %

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): δ 1.29 (m, 2H), 1.66 (m, 2H), 1.84 (m, 2H), 2.32 (t, 2H), 3.20 (t, 2H), 3.70 (s, 3H) **¹³C-NMR** (101 MHz) δ 173.8, 51.5, 33.7, 33.0, 29.9, 23.8, 6.4

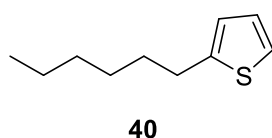
Syntese av metyl-6-(3-metyl-3-sulfolen-2-yl)-heksanoat



Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeidet til Tao.⁷¹

Metyl-6-jodheksanoat (1.1 g, 4.51 mmol, 2 ekv.), 3-metyl-3-sulfolene (0.62 g, 4.74 mmol, 2.1 ekv.) og HMPA (1.65 mL, 9.48 mmol, 4.2 ekv.) ble løst i THF (20 mL) og kjølt ned til -78°C. Under omrøring ble 1.0 M LiHMDS i THF (2.26 mL, 2.26 mmol, 0.5 ekv.) tilsatt. Løsningen sto under omrøring på -78°C i en time før den ble varmet opp til romtemperatur, også dette skjedde under omrøring. Reaksjonen ble stoppet ved å tilsette vann (50 mL) og mettet NaCl-løsning (20 mL). Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med Et₂O/EtOAc (1:1)(3x20 mL) og det oppsto emulsjoner. Organisk fase ble vasket med mettet NaCl-løsning (2x15 mL), tørket med MgSO₄ og konsentrert under vakuum. Råoljen ble rensert på silicakolonne og dette ga et hvitt fast stoff og en gul olje.

Syntese av 2-heksyltiofen



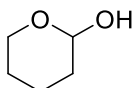
Syntesen ble utført i henhold til Belletête *et.al.*⁷²

Tiofen (1.9 mL, 22.8 mmol) ble løst i THF (20 mL) og temperaturen ble senket til -78°C. Under omrøring ble BuLi (10 mL, 22.8 mmol) og bromheksan (3.4 mL, 24 mmol, 1.01 ekv.) og løsningen ble stående under omrøring på denne temperaturen i 30 min før løsningen ble varmet opp til romtemperatur og sto under omrøring til dagen etter. Reaksjonen ble stoppet ved å tilsette konsentrert NaCl-løsning (20 mL). Vannfasen ble ekstrahert med dietyleter (2x15 mL) før de samlede organiske fasene ble vasket med vann (3x15 mL), tørket med MgSO₄ og konsentrert under vakuum til en brunaktig råolje. Denne oljen ble rensert ved destillasjon til en blank olje.

Utbytte: 0.82 g (4.88 mmol), 21 %

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): δ 0.88 (t, 3H), 1.31 (m, 7H), 1.67 (m, 2H), 2.81 (t, 2H), 6.77 (d, 1H), 6.91 (dd, 1H), 7.09 (d, 1H) **¹³C-NMR** (101 MHz) δ 126.7, 124.0, 122.8, 31.9, 31.7, 31.0, 28.9, 22.7, 14.2

Syntese av Tetrahydro-2H-pyran-2-ol



Syntesen er utført i henhold til det publiserte arbeidet til Sokolsky *et.al.*⁷³

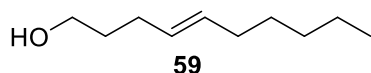
3,4-dihydro-2H-pyran (3.0g, 3.23 mL, 35.7 mmol) ble kjølt ned til 0°C før 2.0 M HCl (20 mL) ble dråpevis tilsatt under omrøring. Løsningen sto under omrøring i 15 minutter ved 0°C og deretter i romtemperatur i en time. Vannfasen ble ekstrahert med diklormetan (3x20 mL) før samlede organiske faser ble vasket med konsentrert natriumbikarbonatløsning (2x20 mL) og konsentrert NaCl-løsning (2x20 mL), tørket med Na₂SO₄ og konsentrert i vakuum til en blank råolje.

Utbytte: 0.71 g (6.87 mmol), 20 %

4.3 Mikroreaktor

Syntese av *trans*-4-dekenol

Syntesen er utført i henhold til det publiserte arbeidet til Wang *et.al.*⁷⁴



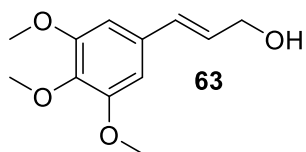
LiAlH₄ (2.00g, 52.7 mmol) ble løst i THF (70 mL) før etylesteren av *E*-4-dekansyre (5.01g, 25.2mmol) ble tilsatt dråpevis ved 0 °C. Løsningen sto under omrøring i 30 min før reaksjonen ble stoppet ved dråpevis tilsetning av vann. Etter at reaksjon ble stoppet sto løsningen under omrøring over natta ved romtemperatur. Løsningen ble konsentrert *in vacuo*.

Utbytte: 2.0 g (12.2 mmol) 52 %

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): δ 0.85 (t, 3H), 1.23 (m, 6H), 1.52 (m, 2H), 1.98 (dd, 4H), 2.61 (s, 1H), 3.53 (t, 2H), 5.35 (m, 2H). **¹³C-NMR** (101 MHz): δ 131.1, 129.3, 62.2, 32.5, 32.4, 31.3, 29.2, 28.8, 22.5, 14.0

Stamløsninga ble laget ved at *trans*-4-dekenol (1.89 g, 12.3 mmol), bromoform (6.849 g, 27.7mmol) og TEBA (0.123 g, 0,539 mmol) ble løst i CH₂Cl₂ (8.83 mL) og etanol (0.05 mL, 96 %)

Syntese av Etyl(E)-3-(3,4,5-trimetoksyfenyl)akrylat:



Syntesen er basert på det publiserte arbeidet til Wang *et.al.*⁷⁴

Forbindelsen ble laget ved en Horner-Wadsworth-Emmons-reaksjon (HWE).

Metyldietylfosfonacetat (10.5 mL, 57mmol) ble dråpevis tilsatt en løsning av NaH (1,73g, 60 % i mineralolje, 51mmol) og THF (90 mL) ved 0 °C. Løsning sto under omrøring ved 0°C i 30 min før 3,4,5-trimetoksifenylaldehyd (4.75 g, 0.024mmol) med tilsatt. Løsningen sto under omrøring over natta i romtemperatur og reaksjonen ble stoppet ved å tilsette vann. Løsningen ble separert og ekstrahert, før den ble kjørt gjennom en plugg med silika (ca. 1.5 cm).

Løsningen ble konsentrert *in vacuo* til en olje

Utbytte: 4.94g (26.3 mmol), 91 %.

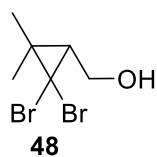
Mobilfase: Et₂O/heksan 1:1

Generell prosedyre for opparbeiding av prøve

Alle syntesene i denne delen av oppgaven er utført i henhold til det publiserte arbeidet til Østby *et.al.*¹

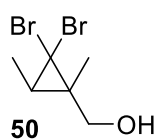
Alle stamløsninger var laget etter forholdet 1:2 alken:bromoform med 4.3 mol% TEBA. NaOH (5mL, 40 % w/w) og stamløsning (1.033 mL, 1.430 mmol alken) ble injisert på mikroreaktoren. Reaksjonstiden var 75 min før man økte farten i 3-4 min. Diklormetan (100 mL) ble tilsatt oppsamlingskolben med råoljen før vann- og organisk fase ble separert. Vannfasen ble ekstrahert med diklormetan (2x50 mL) og de samlede organiske fasene ble vasket med brine (2x50 mL), tørket med magnesiumsulfat (MgSO₄), filtrert og konsentrert *in vacuo*. I alle skilleprosesser ble det dannet emulsjon. Den konsentrerte prøven ble løst i Chloroform-D (CDCl₃). ¹H-NMR- og ¹³C-NMR-spektre ble tatt opp for å kontrollere at reaksjonen fungerte. Produktet ble løst i litt CH₂Cl₂ og overført til en silikakolonne for rensing.

Syntese av (2,2-dibromo-3,3-dimethylcyclopropyl)methanol (2)



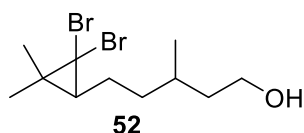
Prosedyren ble fulgt. **Utbytte:** 0.249 g (0.96 mmol), 77 %. **¹H-NMR** (400MHz, CDCl₃): δ 1.25 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.61 (t, *J* 7.3 Hz, 1H), 1.84 (s, 1H), 3.74 (d, *J* 5.6 Hz, 1H), 3.76 (d, *J* 5.6 Hz, 1H). **¹³C-NMR** (101 MHz) δ 62.0, 44.5, 40.5, 29.0, 27.3, 19.5. (5 % EtOAc i heksan).

Syntese av (2,2-dibromo-1,3-dimetylsyklopropyl)metanol (3)



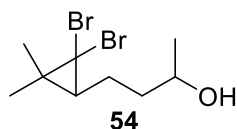
Prosedyren ble fulgt. **Utbytte:** 0.045g (0.17 mmol), 13 %. **¹H-NMR** (400MHz, CDCl₃): δ 1.14 (s, 3H), 1.28 (s, 3H), 1.52 (q, *J* 6.48 Hz, 1H), 1.96 (s, 1H), 3.65 (d, *J* 11.9 Hz, 1H), 3.83 (d, *J* 11.9, 1H). **¹³C-NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 71.4, 45.5, 33.2, 21.1, 14.6, 11.6. **R_f** (5 % EtOAc i heksan).

Syntese av 5-(2,2-dibromo-3,3-dimetylsyklopropyl)-2-metylpentan-1-ol (4)



Prosedyren ble fulgt. **Utbytte:** 0.247g (0.75 mmol), 55 %. **¹H-NMR** (400MHz, CDCl₃): δ 0.92 (d, *J* 6.5 Hz, 3H), 1.16 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.38-1.64 (m, 6H), 1.84 (s, 1H), 3.67 (m, 2H). **¹³C-NMR** (101 MHz, CDCl₃): δ 60.9, 48.4, 39.7, 37.2, 35.6, 29.2, 25.7, 19.7, 19.6, 19.3. **R_f** (10 % EtOAc i heksan).

Syntese av 5-(2,2-dibromo-3,3-dimetylsyklopropyl)-pentan-1-ol



Prosessen ble fulgt. **Utbytte:** 0.346 g (1.15 mmol), 77 %. **¹H-NMR** (400MHz, CDCl₃): δ 1.18 (s, 3H), 1.23 (d, *J* 6.2 Hz, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.42-1.74 (m, 6H), 3.75-3.87 (m, 1H) **¹³C-NMR**

(101 MHz, CDCl₃): δ 67.6, 48.1, 39.8, 37.7, 28.1, 23.7, 23.6, 23.4, 19.3. **R_f** (10 % EtOAc i heksan)

5 Referanser

1. Østby, R. B.; Stenstrøm, Y. H.; Didriksen, T., The Use of Flow Chemistry for Two-Phase Dibromocyclopropanation of Alkenes. *Journal of Flow Chemistry* **2015**, 5 (2), 69-73.
2. Runa Berg Østby, T. D., Simen Gjølseth Antonsen, Steinar Sollien Nicolaisen og Yngve Stenstrøm, Two-Phase Dibromocyclopropanation of Unsaturated Alcohols Using Flow Chemistry. *Molecules* **2020**, 25 (10).
3. Skiaker, I. Syntetiske studier mot fettsyren 8-(5-heksyltetrahydrotiofen-2-yl)oktansyre. UMB, Ås, 2009.
4. Schulz, H.; Krüger, H., Rapid SPME-GC Analysis of Volatile Secondary Metabolites in Various Wild Species of the Genus *Allium*. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* **2002**, 9 (2-3), 205-210.
5. Hanson, J. R., *Natural Products: The Secondary Metabolites*. 2003; p 154.
6. Dewick, P. M., *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. 3rd ed.; Jon Wiley & Sons Ltd: United Kingdom, 2009; p 539.
7. Dewick, P. M., *Medicinal Natural Products*. 3rd ed.; Wiley: Chichester, UK, 2009; p 460-464.
8. Greenfield, M. D., *Signalers and Receivers: Mechanisms and Evolution of Arthropod Communication*. Oxford University Press, inc. : 198 Madison Avenue, New York (US), 2002; p 414.
9. Danka, R., G.; Williams, J., L.; Rinderer, T., E., A bait station for survey and detection of honey bees*. *Apidologie* **1990**, 21 (4), 287-292.
10. Whelan, J.; Fritsche, K., Linoleic Acid. *Advances in Nutrition* **2013**, 4 (3), 311-312.
11. *Rockwood and Wilkins' Fractures in Children*. 7th ed.; Lippincott Williams and Wilkins: Philadelphia (USA), 2010.
12. *Molecular, Clinical and Environmental toxicology*. Birkenhäuser Verlag AG: Basel, 2009; Vol. 99.
13. Fraser, W. R. M. a. H. F., A comparative study of physiological and subjective effects of heroin and morphine administered intravenously in postaddicts. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **1961**.
14. Montecucco, C.; Molgó, J., Botulinum neurotoxins: revival of an old killer. *Current Opinion in Pharmacology* **2005**, 5 (3), 274-279.
15. Luvisetto, S.; Gazerani, P.; Cianchetti, C.; Pavone, F., Botulinum Toxin Type a as a Therapeutic Agent against Headache and Related Disorders. *Toxins (Basel)* **2015**, 7 (9), 3818-3844.
16. Lacy, D. B.; Tepp, W.; Cohen, A. C.; DasGupta, B. R.; Stevens, R. C., Crystal structure of botulinum neurotoxin type A and implications for toxicity. *Nature Structural Biology* **1998**, 5 (10), 898-902.
17. Fahy, E.; Subramaniam, S.; Murphy, R. C.; Nishijima, M.; Raetz, C. R.; Shimizu, T.; Spener, F.; van Meer, G.; Wakelam, M. J.; Dennis, E. A., Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids. *J Lipid Res* **2009**, 50 Suppl, S9-14.
18. Carey, F. A., *Organic Chemistry*. 6th ed.; McGraw-Hill: 2006; p 1271.
19. Raper, H. S., CLXXV.—The condensation of acetaldehyde and its relation to the biochemical synthesis of fatty acids. *Journal of the Chemical Society, Transactions* **1907**, 91 (0), 1831-1838.
20. Smith, S.; Tsai, S.-C., The type I fatty acid and polyketide synthases: a tale of two megasynthases. *Nat Prod Rep* **2007**, 24 (5), 1041-1072.
21. Jenni, S.; Leibundgut, M.; Maier, T.; Ban, N., Architecture of a Fungal Fatty Acid Synthase at 5 Å Resolution. *Science* **2006**, 311 (5765), 1263-1267.

22. Maier, T.; Jenni, S.; Ban, N., Architecture of Mammalian Fatty Acid Synthase at 4.5 Å Resolution. *Science* **2006**, *311* (5765), 1258-1262.
23. Freemantle, E.; Vandal, M.; Tremblay-Mercier, J.; Tremblay, S.; Blachère, J.-C.; Bégin, M. E.; Thomas Brenna, J.; Windust, A.; Cunnane, S. C., Omega-3 fatty acids, energy substrates, and brain function during aging. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **2006**, *75* (3), 213-220.
24. Serhan, C. N.; Petasis, N. A., Resolvins and Protectins in Inflammation Resolution. *Chemical Reviews* **2011**, *111* (10), 5922-5943.
25. Helseinformatikk, N. Inflammasjon.
<https://nhi.no/sykdommer/hud/diverse/inflammasjon/?page=all>.
26. Samuelsson, B.; Dahlen, S.; Lindgren, J.; Rouzer, C.; Serhan, C., Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects. *Science* **1987**, *237* (4819), 1171-1176.
27. Ryan, A.; Godson, C., Lipoxins: regulators of resolution. *Current Opinion in Pharmacology* **2010**, *10* (2), 166-172.
28. Serhan, C. N., Lipoxin biosynthesis and its impact in inflammatory and vascular events. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism* **1994**, *1212* (1), 1-25.
29. v. Euler, U. S., Über die Spezifische Blutdrucksenkende Substanz des Menschlichen Prostata- und Samenblasensekretes. *Klinische Wochenschrift* **1935**, *14* (33), 1182-1183.
30. Lerma, K.; Blumenthal, P. D., Current and potential methods for second trimester abortion. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* **2020**, *63*, 24-36.
31. Beena, B, S. S. o. D. P. K. S., A CLINICAL COMPARATIVE STUDY BETWEEN MISOPROSTOL (PGE1) AND DINOPROSTONE (PGE2) FOR INDUCTION OF LABOUR AT TERM - A PROSPECTIVE RANDOMISED CONTROLLED TRIAL. *International journal of medical an biomedical studies* **2019**, *3* (9).
32. Ricciotti, E.; FitzGerald, G. A., Prostaglandins and Inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **2011**, *31* (5), 986-1000.
33. Dembitsky, V. M.; Abu-Lafi, S.; Hanuš, L. O., Occurrence of Sulfur-Containing Fatty Acids in *Allium sativum*. *Natural Product Communications* **2007**, *2* (7), 1934578X0700200713.
34. Nielsen, G. S.; Poll, L., Determination of Odor Active Aroma Compounds in Freshly Cut Leek (*Allium ampeloprasum* Var. *Bulga*) and in Long-Term Stored Frozen Unblanched and Blanched Leek Slices by Gas Chromatography Olfactometry Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, *52* (6), 1642-1646.
35. Suleria, H. A. R.; Butt, M.; Anjum, F.; Saeed, F.; Khalid, N., Onion: Nature Protection Against Physiological Threats. *Critical reviews in food science and nutrition* **2014**, *55*, 50-66.
36. Zohri, A.-N.; Abdel-Gawad, K.; Saber, S., Antibacterial, antidermatophytic and antitoxigenic activities of onion (*Allium cepa* L.) oil. *Microbiological Research* **1995**, *150* (2), 167-172.
37. Laki, K., OUR ANCIENT HERITAGE IN BLOOD CLOTTING AND SOME OF ITS CONSEQUENCES. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1972**, *202* (1), 297-307.
38. Sosulski, F. W.; Dabrowski, K. J., Determination of glucosinolates in canola meal and protein products by desulfation and capillary gas-liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1984**, *32* (5), 1172-1175.
39. Wijesundera, R. C.; Ackman, R. G., Evidence for the probable presence of sulfur-containing fatty acids as minor constituents in canola oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **1988**, *65* (6), 959-963.

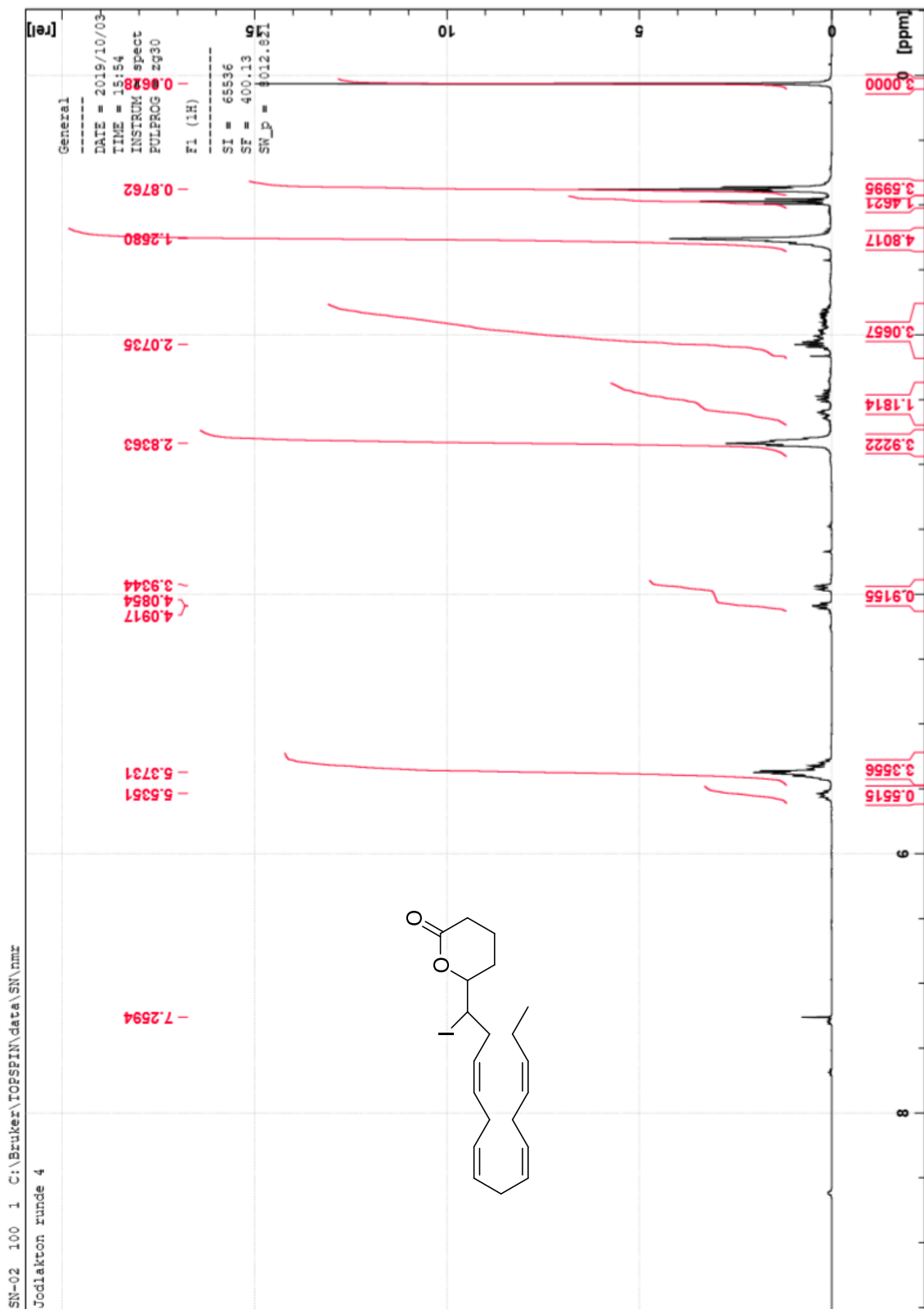
40. Jonathan Clayden, N. G., and Stuart Warren, *Organic Chemistry second edition*. Oxford University Press Inc.: New York, USA, 2012; p 689-693.
41. Schlosser, M.; Christmann, K. F., Trans-Selective Olefin Syntheses. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1966**, 5 (1), 126-126.
42. Vedejs, E.; Marth, C. F.; Ruggeri, R., Substituent effects and the Wittig mechanism: the case of stereospecific oxaphosphetane decomposition. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, 110 (12), 3940-3948.
43. Robiette, R.; Richardson, J.; Aggarwal, V. K.; Harvey, J. N., Reactivity and Selectivity in the Wittig Reaction: A Computational Study. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128 (7), 2394-2409.
44. Hansen, A. v. o. T. V., in *From Biosynthesis to total synthesis* Wiley: New Jersey, 2016; p 130.
45. Wadsworth, W. S.; Emmons, W. D., The Utility of Phosphonate Carbanions in Olefin Synthesis. *Journal of the American Chemical Society* **1961**, 83 (7), 1733-1738.
46. Durand, S.; Parrain, J.-L.; Santelli, M., Construction of (Z,Z) skipped 1,4-dienes. Application to the synthesis of polyunsaturated fatty acids and derivatives. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **2000**, (3), 253-273.
47. Roy Baker, R., The eicosanoids: A historical overview. *Clinical Biochemistry* **1990**, 23 (5), 455-458.
48. Wesson, L. G., ON A POSSIBLE RELATIONSHIP OF ARACHIDONIC ACID TO THE SATURATED FATTY ACIDS IN FATTY ACID METABOLISM. *Journal of Biological Chemistry* **1925**, 65.
49. Viala, J.; Santelli, M., Efficient stereoselective synthesis of methyl arachidonate via C3 homologation. *The Journal of Organic Chemistry* **1988**, 53 (26), 6121-6123.
50. Raphael, R. A.; Sondheimer, F., Synthesis of Linoleic Acid. *Nature* **1950**, 165 (4189), 235-236.
51. Lindlar, H., Ein neuer Katalysator für selektive Hydrierungen. *Helvetica Chimica Acta* **1952**, 35 (2), 446-450.
52. Oger, C.; Balas, L.; Durand, T.; Galano, J.-M., Are Alkyne Reductions Chemo-, Regio-, and Stereoselective Enough To Provide Pure (Z)-Olefins in Polyfunctionalized Bioactive Molecules? *Chemical Reviews* **2013**, 113 (3), 1313-1350.
53. Osbond, J. M.; Philpott, P. G.; Wickens, J. C., 542. Essential fatty acids. Part I. Synthesis of linoleic, γ -linolenic, arachidonic, and docosa-4,7,10,13,16-pentaenoic acid. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1961**, (0), 2779-2787.
54. Sandri, J.; Viala, J., Syntheses of all-(Z)-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid and all-(Z)-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid from (Z)-1,1,6,6-tetraisopropoxy-3-hexene. *The Journal of Organic Chemistry* **1995**, 60 (20), 6627-6630.
55. Still, W. C.; Gennari, C., Direct synthesis of Z-unsaturated esters. A useful modification of the horner-emmons olefination. *Tetrahedron Letters* **1983**, 24 (41), 4405-4408.
56. Vik, A.; Hansen, T. V., Synthetic manipulations of polyunsaturated fatty acids as a convenient strategy for the synthesis of bioactive compounds. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2018**, 16 (48), 9319-9333.
57. Corey, E. J.; Niwa, H.; Falck, J. R., Selective Epoxidation of Eicosa-Cis-5,8,11,14-Tetraenoic (Arachidonic) Acid and Eicosa-Cis-8,11,14-Trienoic Acid. *Journal of the American Chemical Society* **1979**, 101 (6), 1586-1587.
58. Wright, S. W.; Kuo, E. Y.; Corey, E. J., An Effective Process for the Isolation of Docosahexaenoic Acid in Quantity from Cod Liver Oil. *J Org Chem* **1987**, 52 (19), 4399-4401.

59. Omura, K.; Swern, D., Oxidation of alcohols by "activated" dimethyl sulfoxide. a preparative, steric and mechanistic study. *Tetrahedron* **1978**, *34* (11), 1651-1660.
60. Mancuso, A. J.; Brownfain, D. S.; Swern, D., Structure of the dimethyl sulfoxide-oxalyl chloride reaction product. Oxidation of heteroaromatic and diverse alcohols to carbonyl compounds. *The Journal of Organic Chemistry* **1979**, *44* (23), 4148-4150.
61. Mancuso, A. J.; Huang, S.-L.; Swern, D., Oxidation of long-chain and related alcohols to carbonyls by dimethyl sulfoxide "activated" by oxalyl chloride. *The Journal of Organic Chemistry* **1978**, *43* (12), 2480-2482.
62. Mąkosza, M.; Wawrzyniewicz, M., Reactions of organic anions. XXIV. Catalytic method for preparation of dichlorocyclopropane derivatives in aqueous medium. *Tetrahedron Letters* **1969**, *10* (53), 4659-4662.
63. Geuther, A., Ueber die Einwirkung des Phosphoroxychlorids auf die trocknen Salze organischer einbasischer Säuren und über die Formel desselben. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1862**, *123* (1), 113-121.
64. Hine, J., Carbon Dichloride as an Intermediate in the Basic Hydrolysis of Chloroform. A Mechanism for Substitution Reactions at a Saturated Carbon Atom1. *Journal of the American Chemical Society* **1950**, *72* (6), 2438-2445.
65. von E. Doering, W.; Hoffmann, A. K., The Addition of Dichlorocarbene to Olefins. *Journal of the American Chemical Society* **1954**, *76* (23), 6162-6165.
66. Santiago V Luis, E. G.-V., *Flow Chemistry: Integrated Approaches for Practical Applications*. 2019; p 542.
67. Syrris, The Basics of Flow Chemistry. In *FRX Application notes*, Syrris, Ed. 2007; pp 1-3.
68. Baumann, M.; Baxendale, I. R.; Martin, L. J.; Ley, S. V., Development of fluorination methods using continuous-flow microreactors. *Tetrahedron* **2009**, *65* (33), 6611-6625.
69. Langseter, A. M.; Skattebøl, L.; Stenstrøm, Y., A practical synthesis of (all-Z)-eicosa-3,6,9,12-tetraene, a pheromone component isolated from emerald moths. *Tetrahedron Letters* **2012**, *53* (8), 940-941.
70. Perlikowska, W.; Mikołajczyk, M., A Short Synthesis of Enantiomeric Phytosteranes B1 Type I. *Synthesis* **2009**, *2009* (16), 2715-2718.
71. Tao, Y. T.; Liu, C. L.; Lee, S. J.; Chou, S. S. P., Regioselective alkylation of 3-substituted 3-sulfolenes. *The Journal of Organic Chemistry* **1986**, *51* (24), 4718-4721.
72. Belletête, M.; Blouin, N.; Boudreault, P.-L. T.; Leclerc, M.; Durocher, G., Optical and Photophysical Properties of Indolocarbazole Derivatives. *The Journal of Physical Chemistry A* **2006**, *110* (51), 13696-13704.
73. Sokolsky, A.; Wang, X.; Smith, A. B., Spirastrellolide E: synthesis of an advanced C(1)–C(24) southern hemisphere. *Tetrahedron Letters* **2015**, *56* (23), 3160-3164.
74. Wang, Y.-H.; Goto, M.; Wang, L.-T.; Hsieh, K.-Y.; Morris-Natschke, S. L.; Tang, G.-H.; Long, C.-L.; Lee, K.-H., Multidrug resistance-selective antiproliferative activity of Piper amide alkaloids and synthetic analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2014**, *24* (20), 4818-4821.
75. Karsten Kleveland, L. S. a. L. K. S., Chemistry of gem-dihalocyclopropanes. XI. Reactions of dihalocarbenes with allylic alcohols *Acta Chemica Scandinavica* **1977**, *31*.
76. Moses, H. R. j. a. L., Configurational stability of a cyclopropyl Grignard reagent containing a metalated 2-hydroxymethyl group. *The Journal of Organic Chemistry* **1983**, *48* (22).
77. Skell, P. S.; Garner, A. Y., Reactions of Bivalent Carbon Compounds. Reactivities in Olefin-Dibromocarbene Reactions. *Journal of the American Chemical Society* **1956**, *78* (20), 5430-5433.

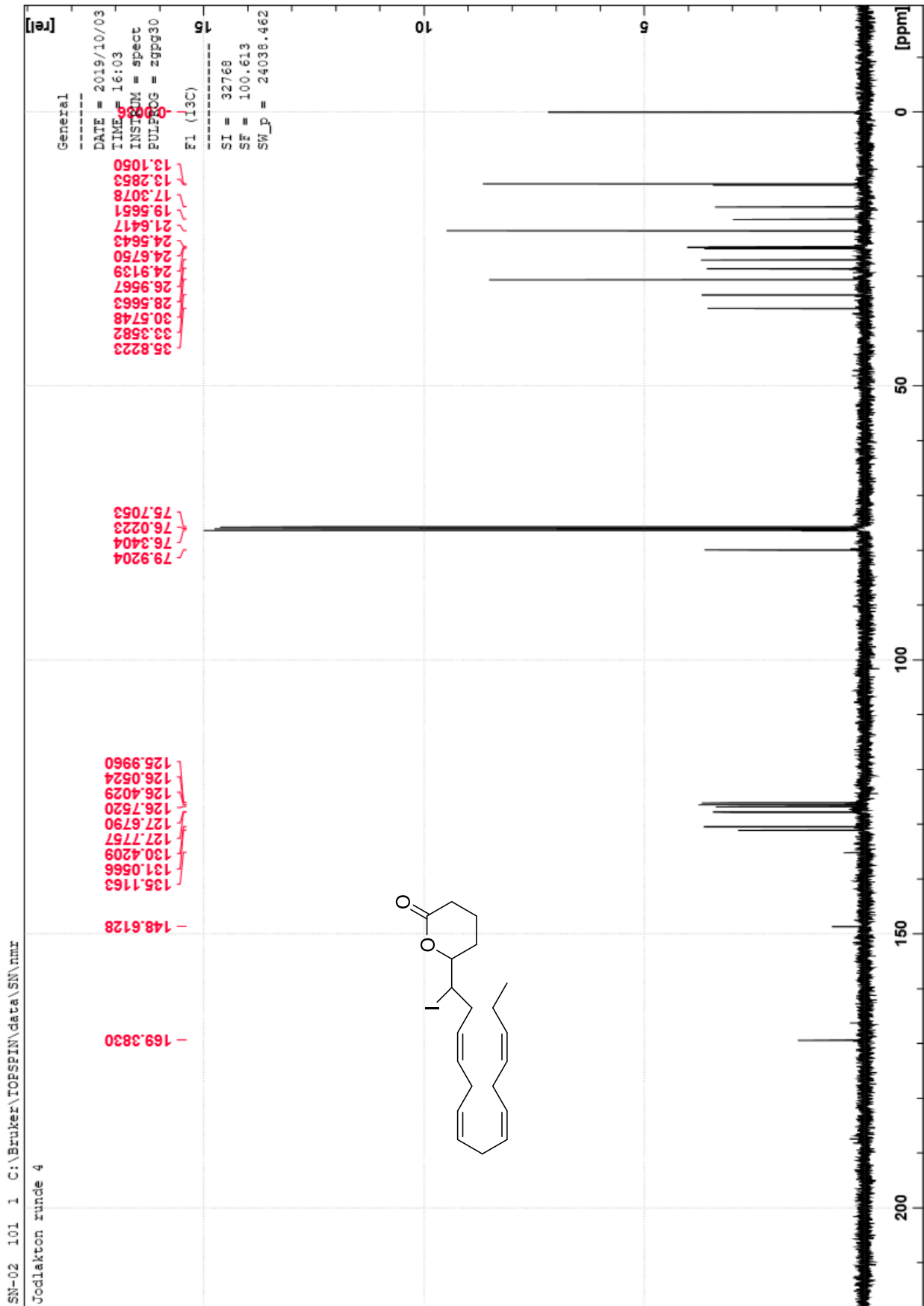
78. Kling, M. R.; Easton, C. J.; Poulos, A., Synthesis of very long chain fatty acid methyl esters. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1993**, (10), 1183-1189.

6. Vedlegg

6.1 Jodlakton

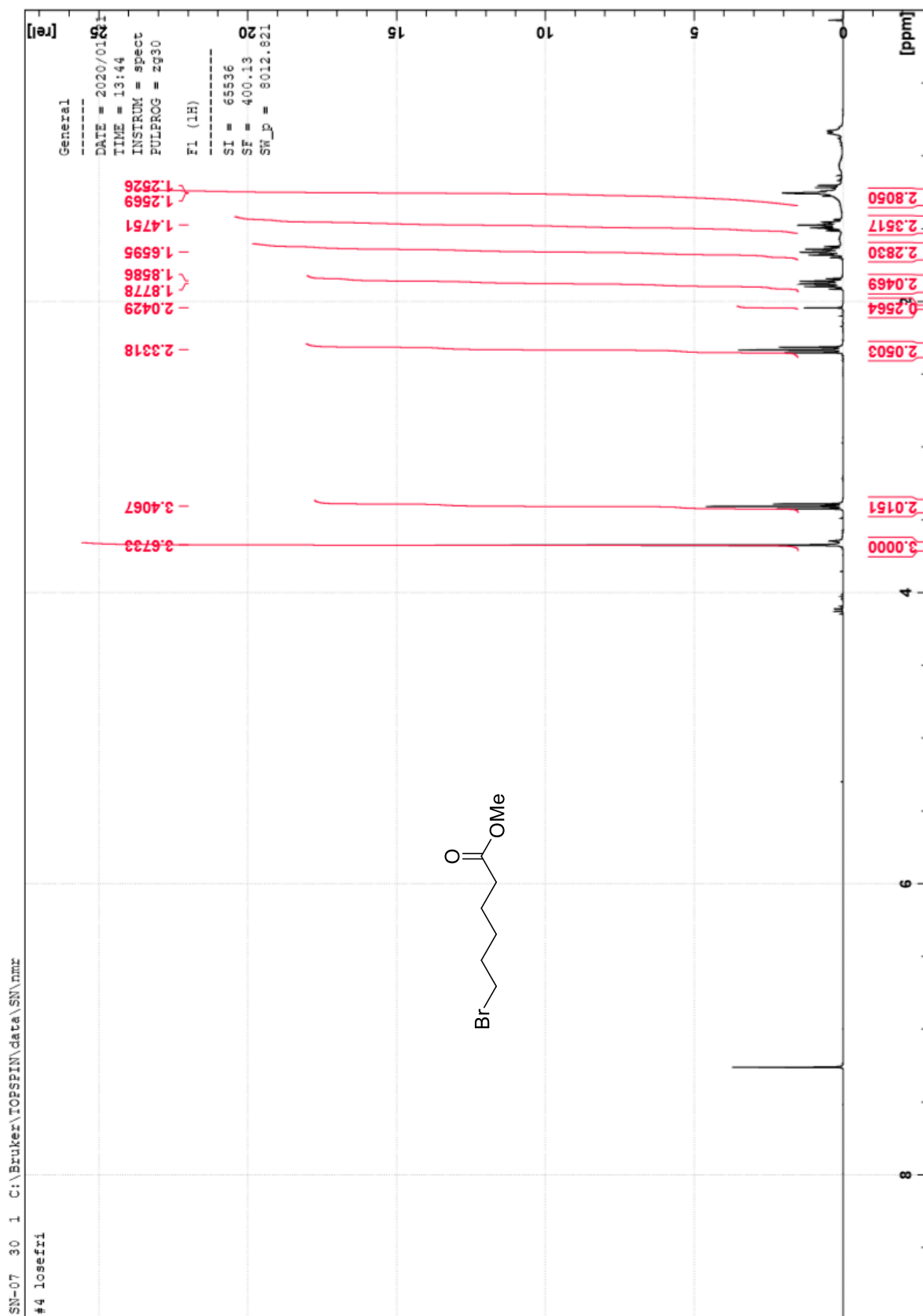


Figur 20: Viser ^1H -NMR-spekteret for jodlakton 36

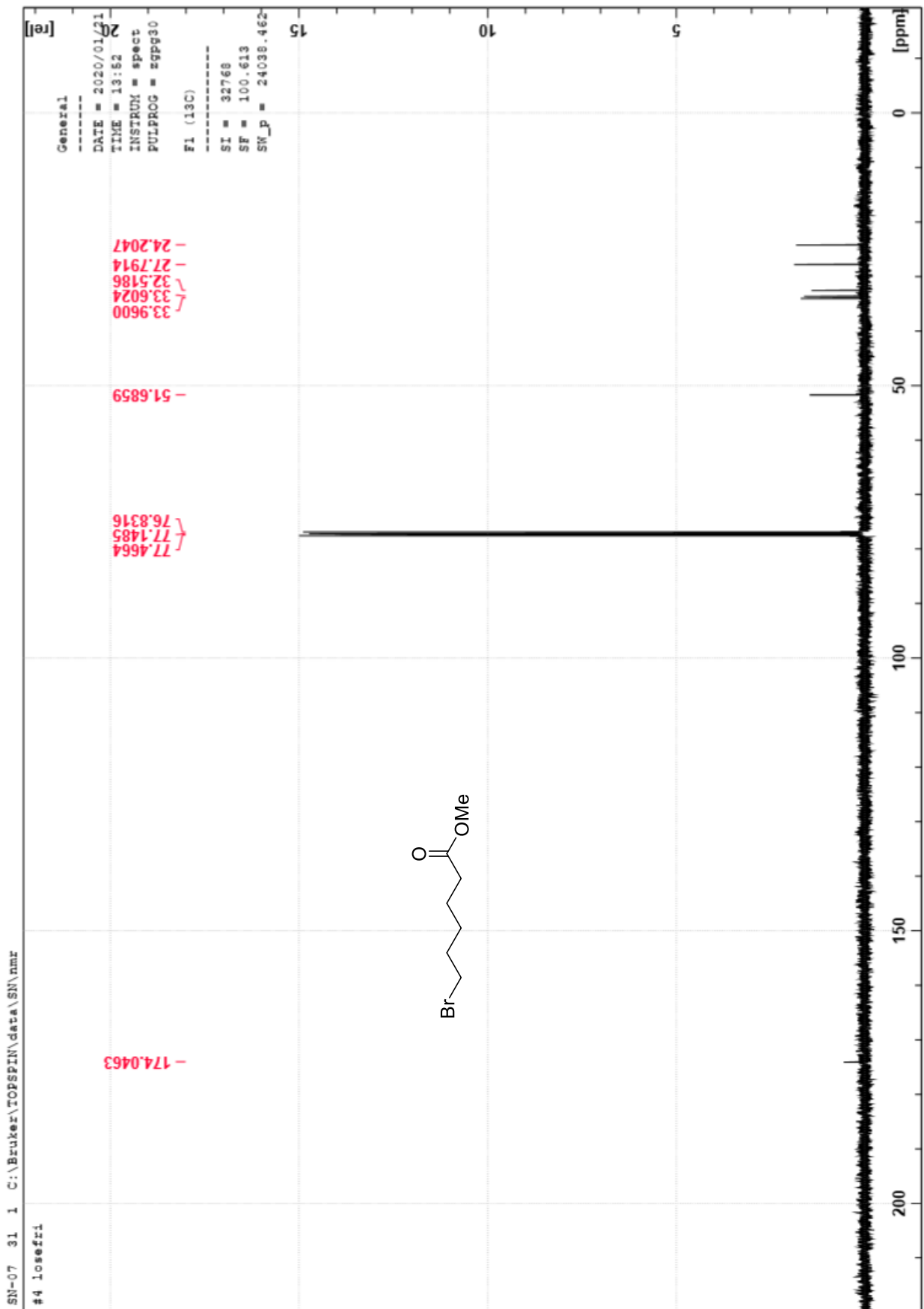


Figur 21: Viser ^{13}C -NMR-spekter for jodlakton 36

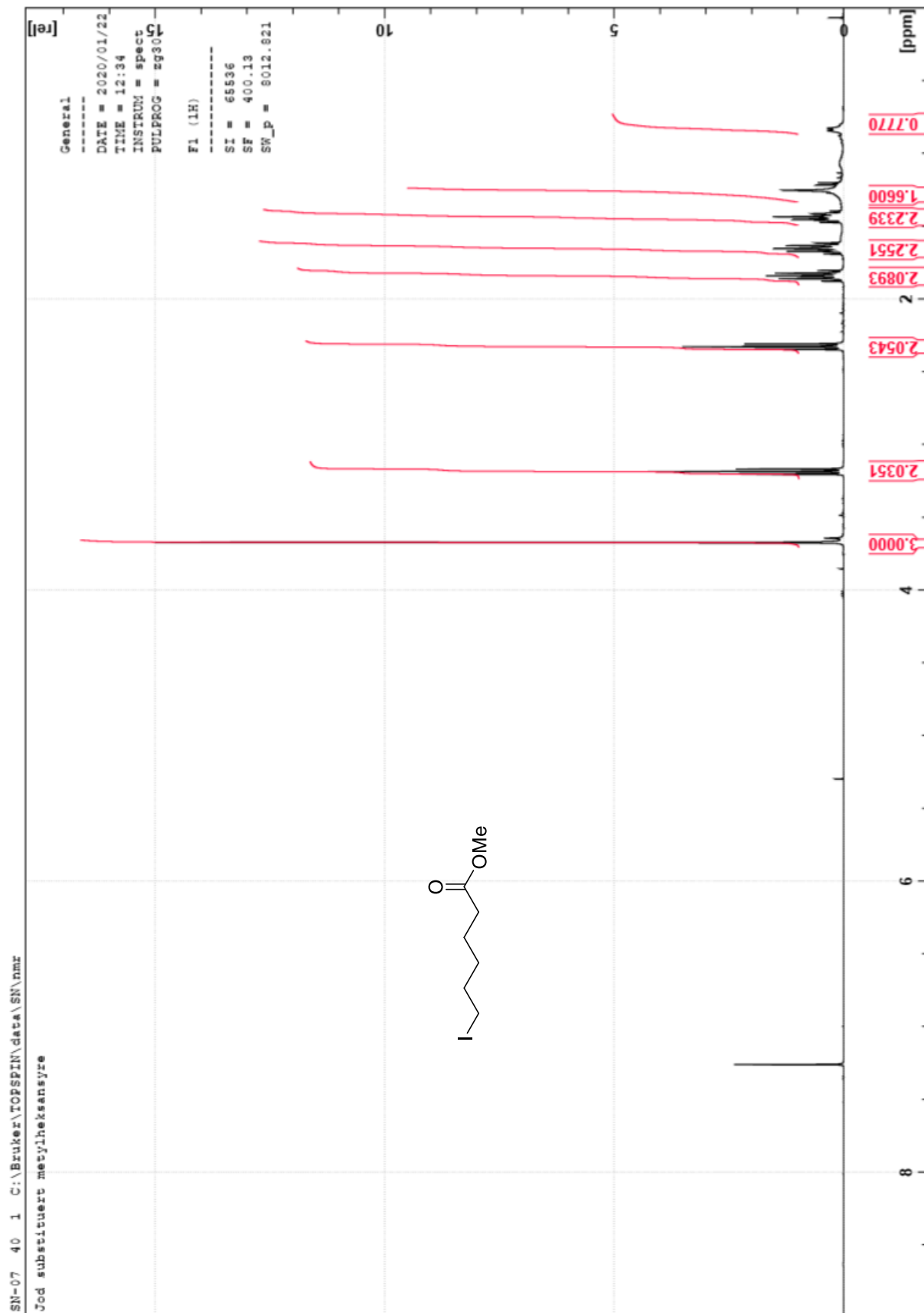
6.2 Spekter for prosjektet med tiofen



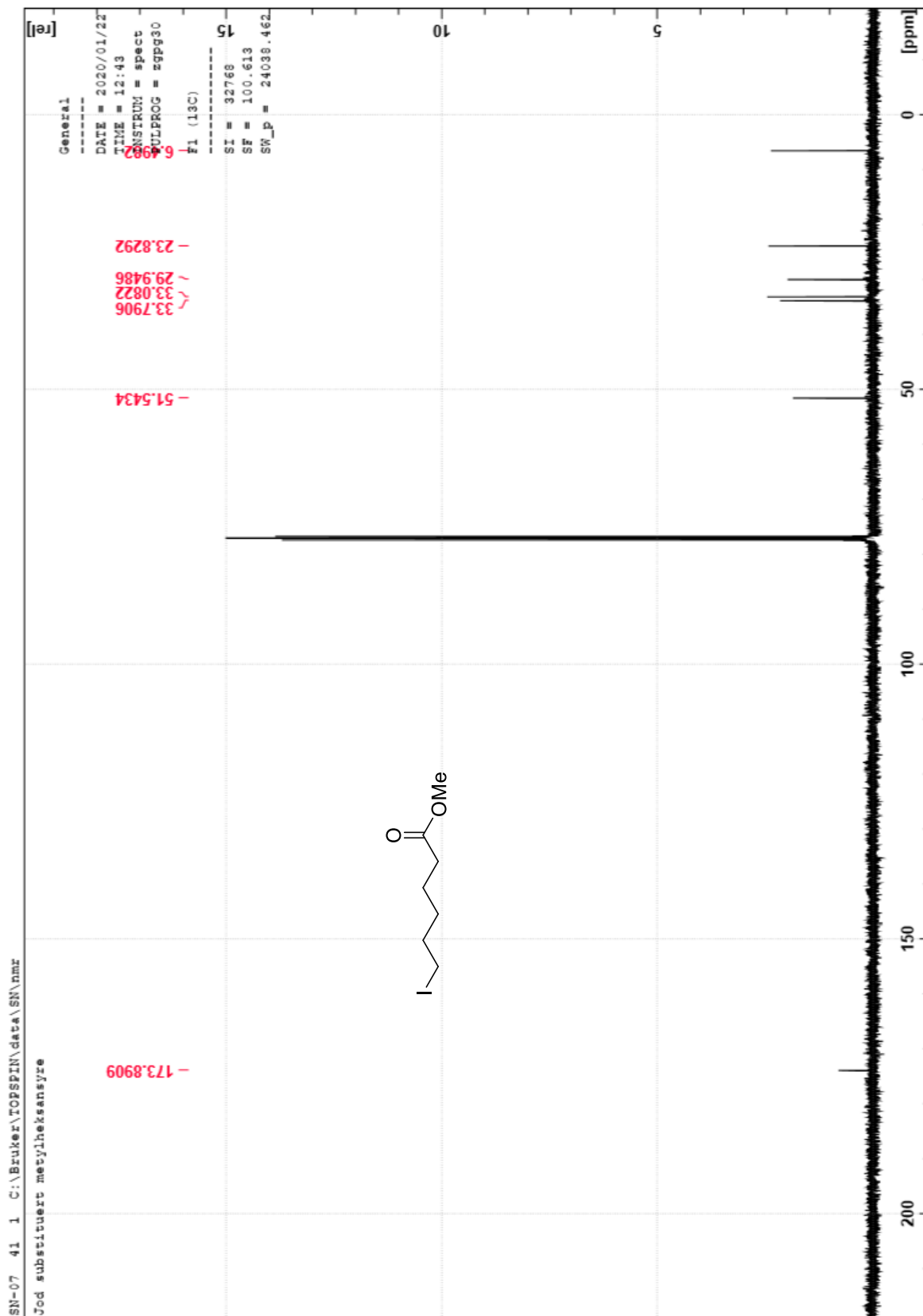
Figur 22: Viser ^1H -NMR-spekter for 37



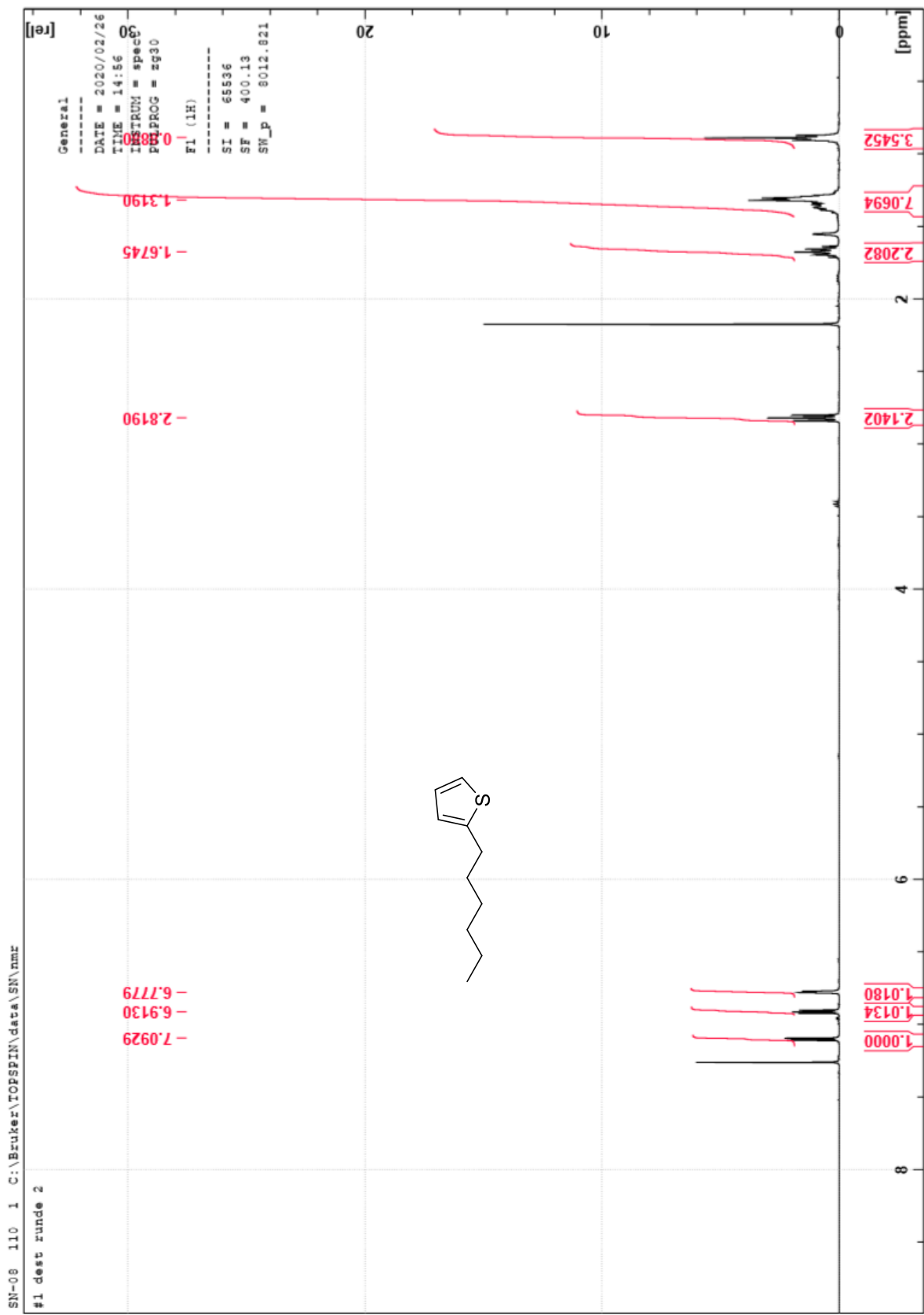
Figur 23: Viser ¹³C-NMR-spekter for 37



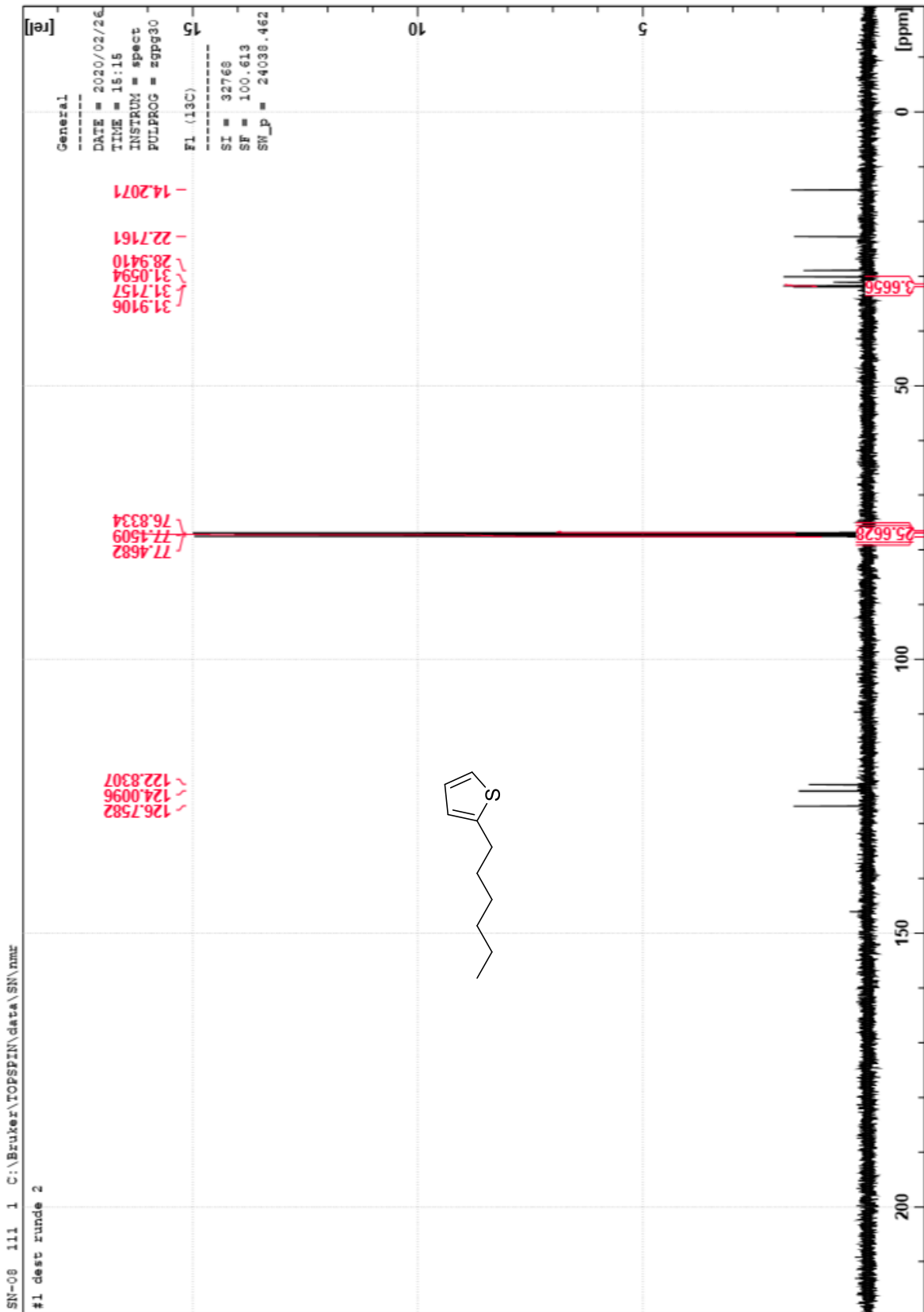
Figur 24: Viser ¹H-NMR-spekteret for 38



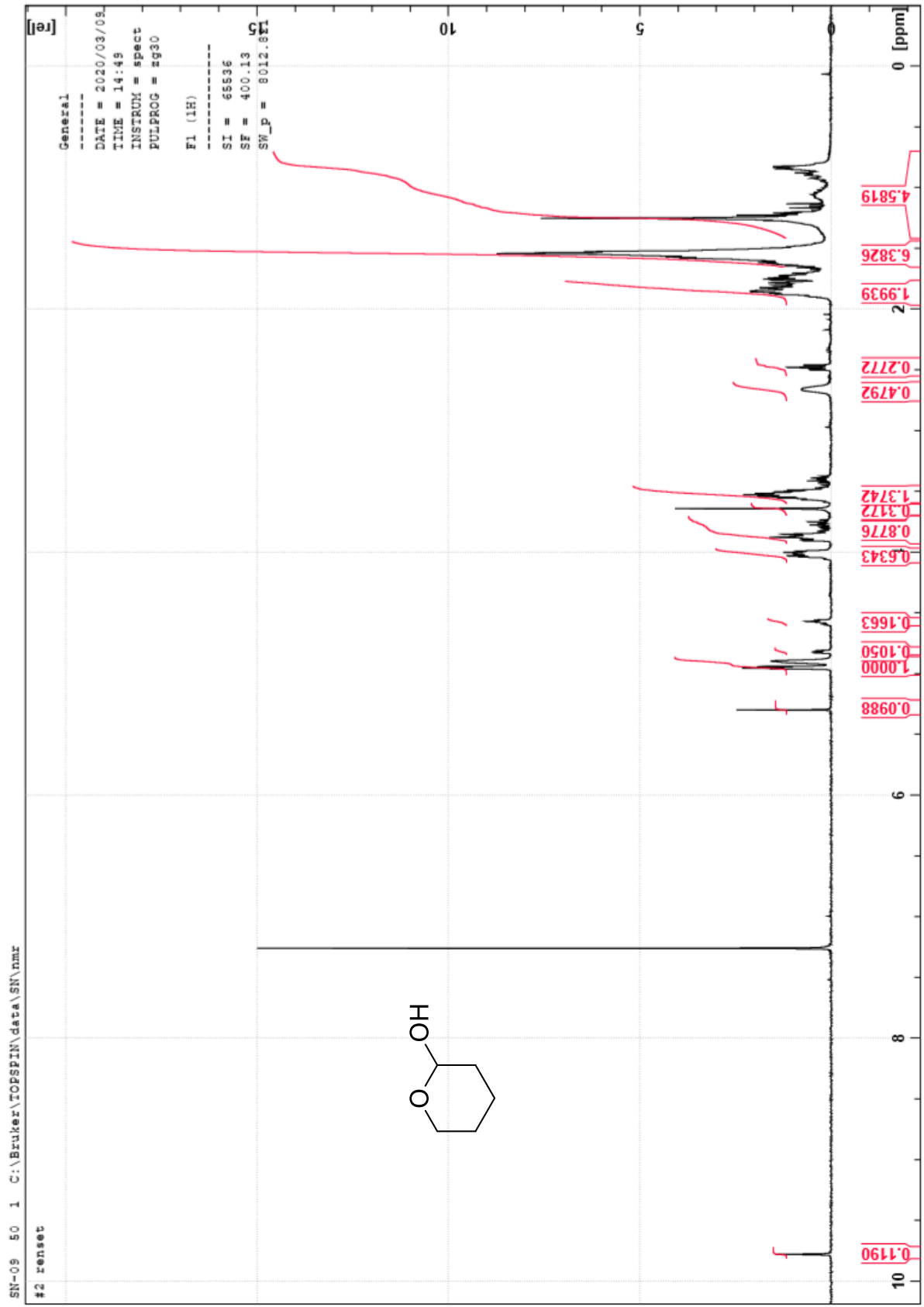
Figur 25: Viser ^{13}C -NMR-spekteret for 38



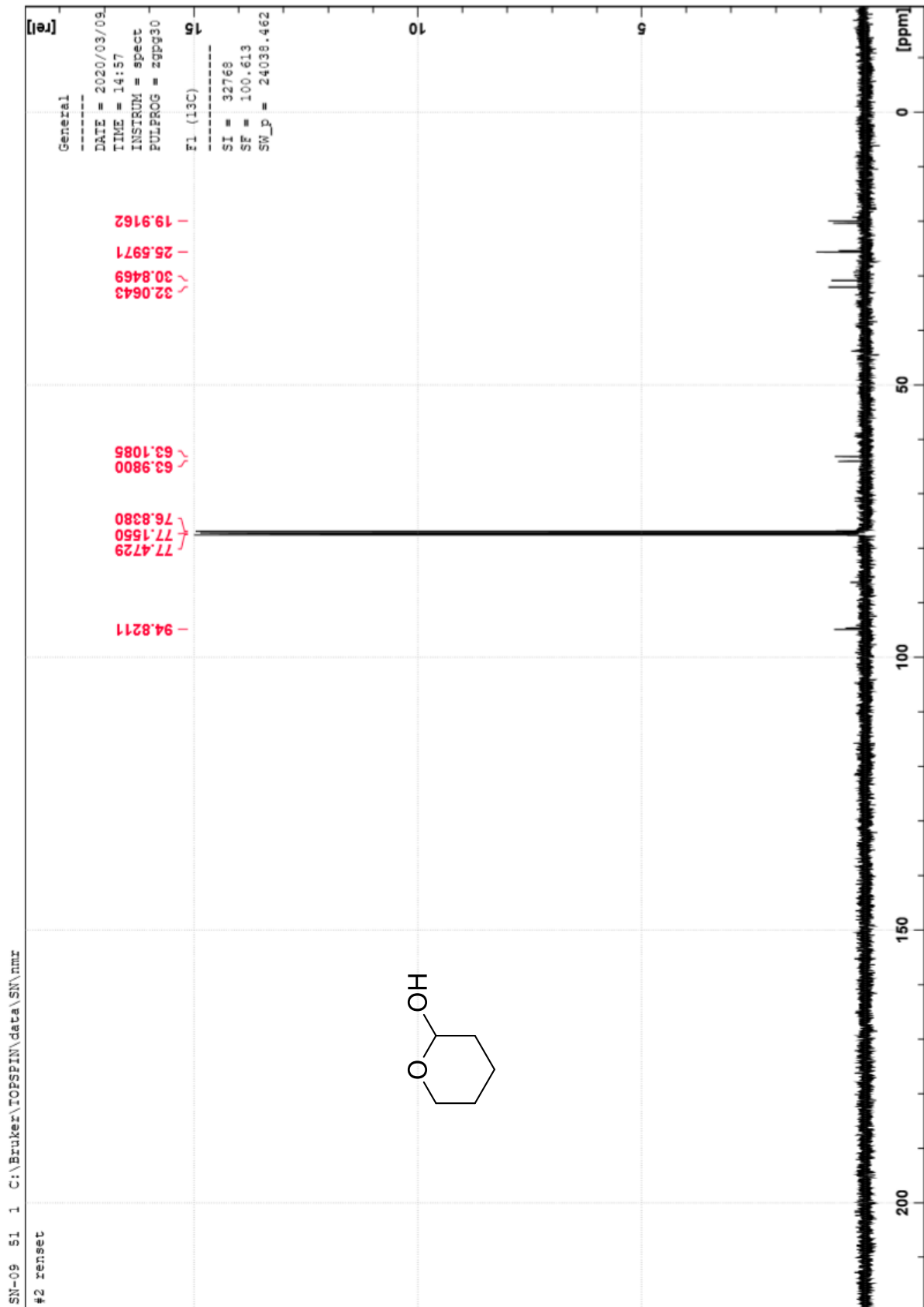
Figur 26: Viser ¹H-NMR-spekteret for 40



Figur 27: Viser ^{13}C -NMR-spekteret for 40

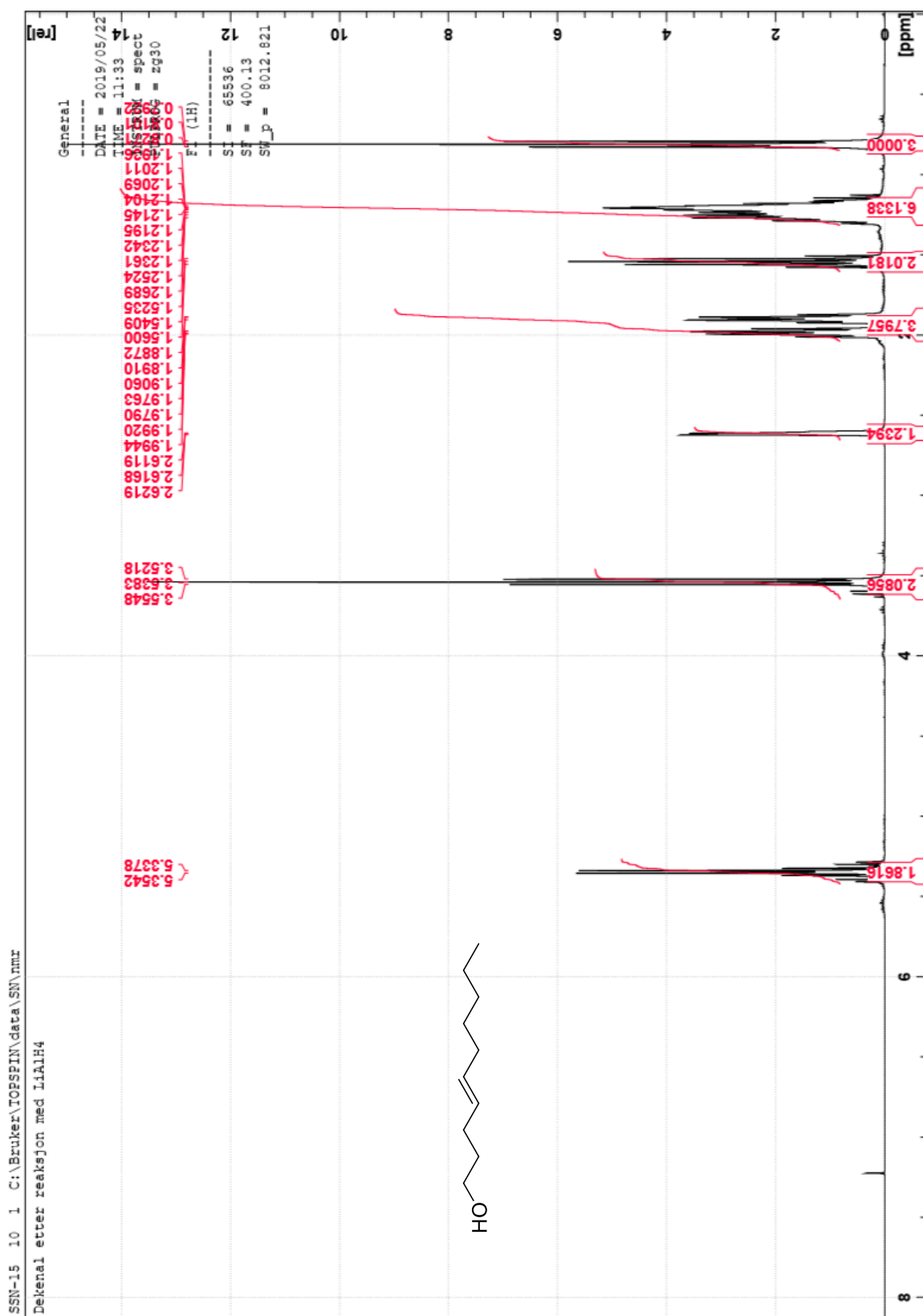


Figur 28: Viser ¹H-NMR-spekteret for 43

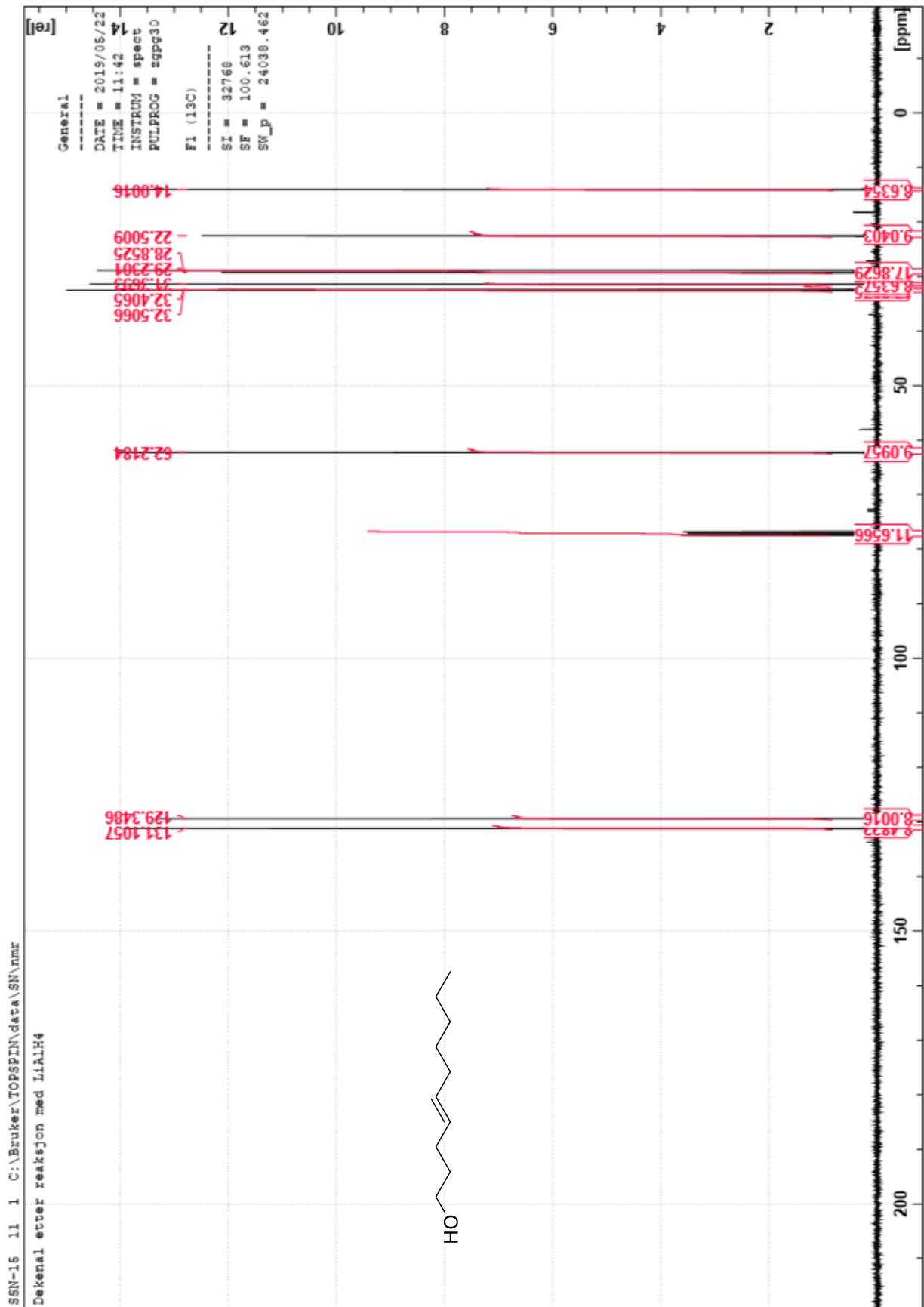


Figur 29: Viser ^{13}C -NMR-spektret for 43

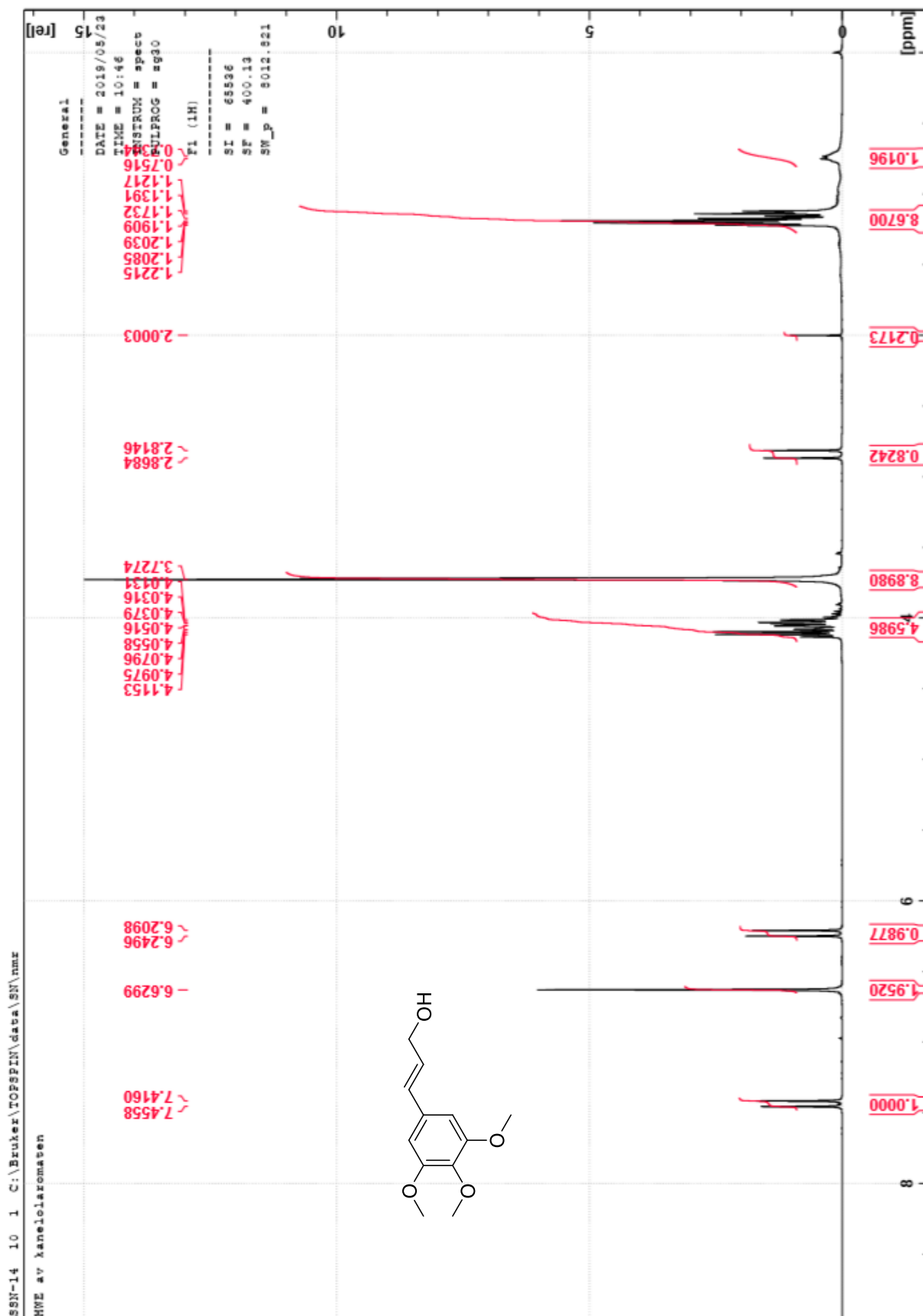
6.3 Mikroreaktor spekter og artikkel



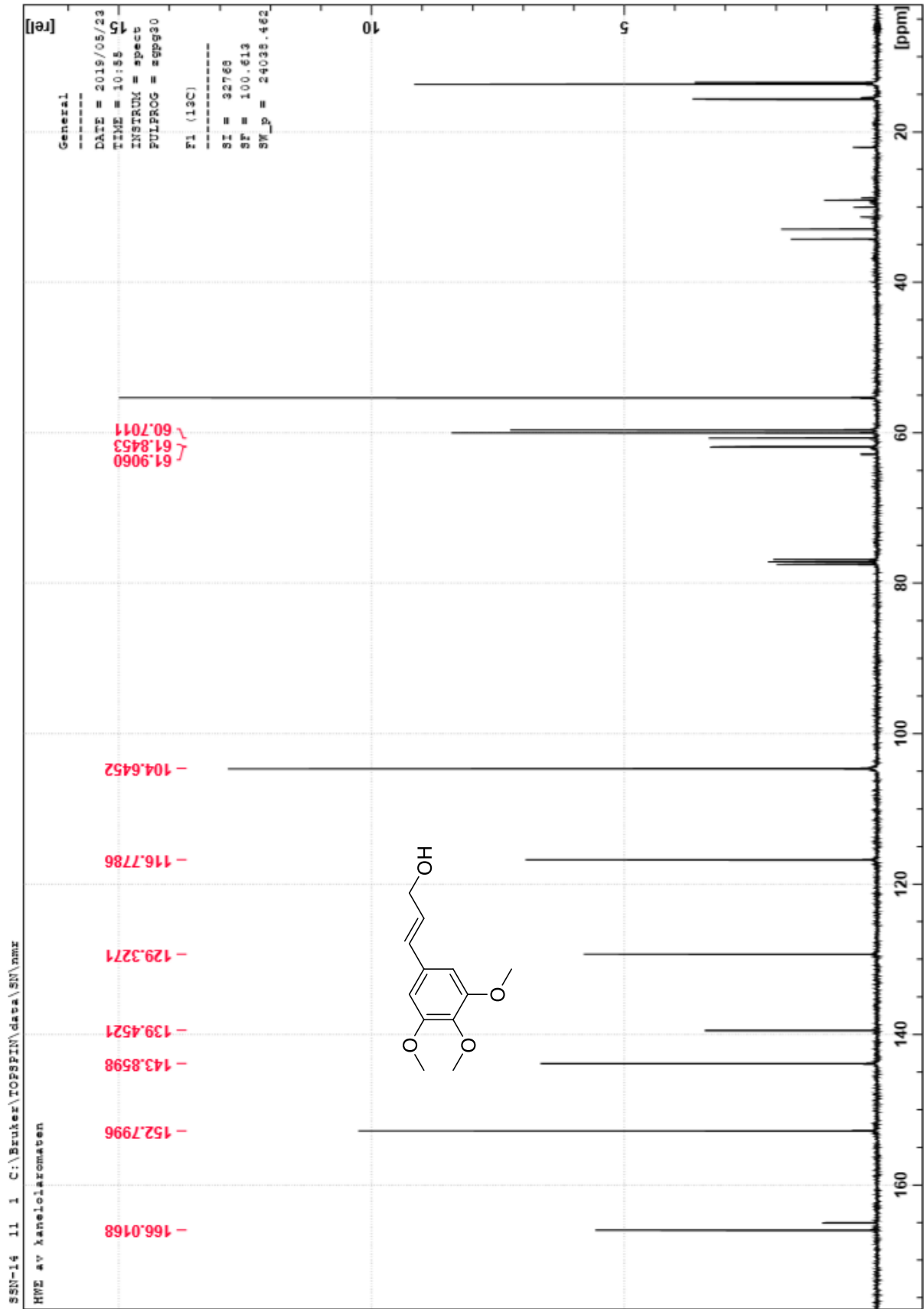
Figur 30: Viser ¹H-NMR-spekteret for 59



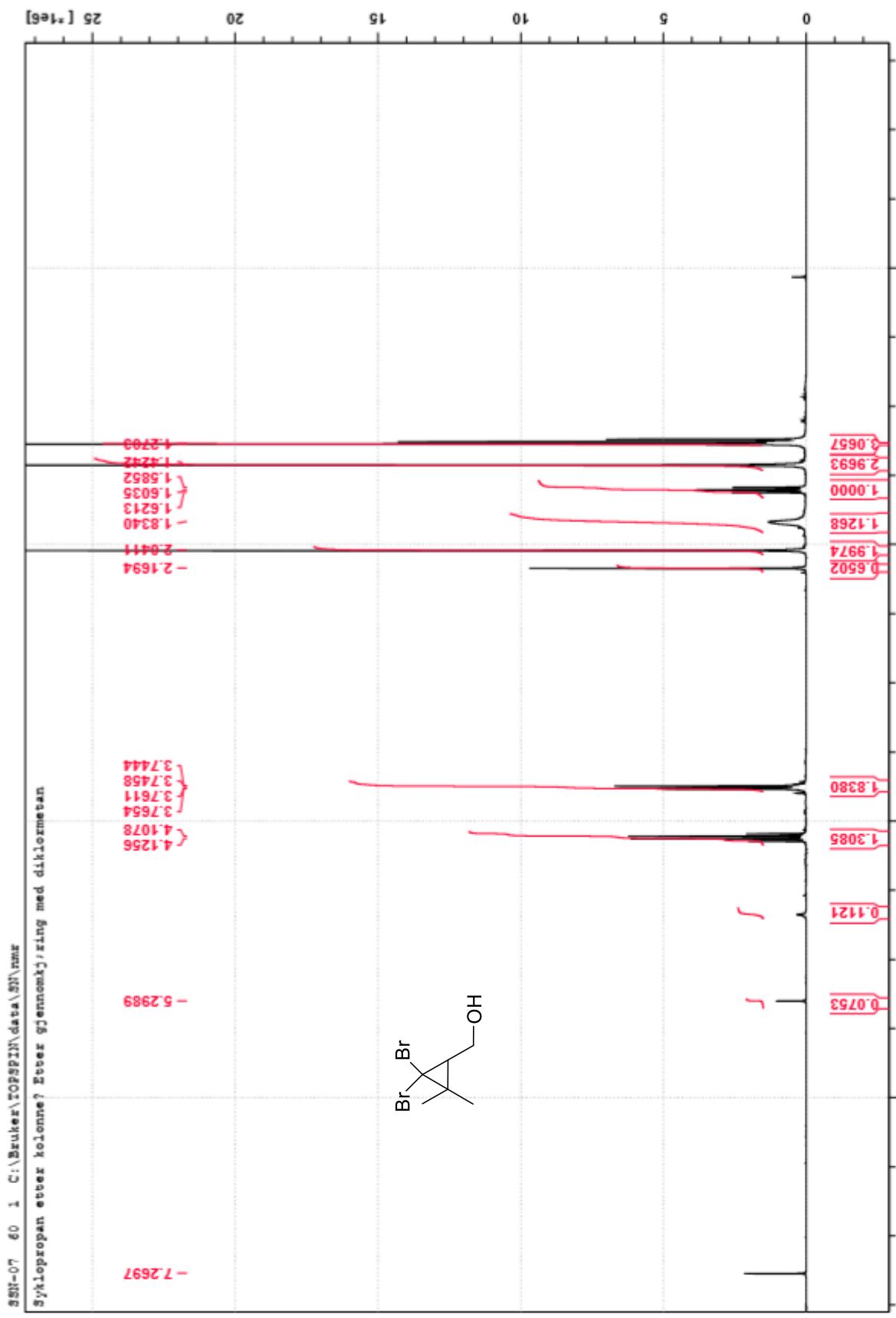
Figur 31: Viser ¹³C-NMR-spekteret for 59



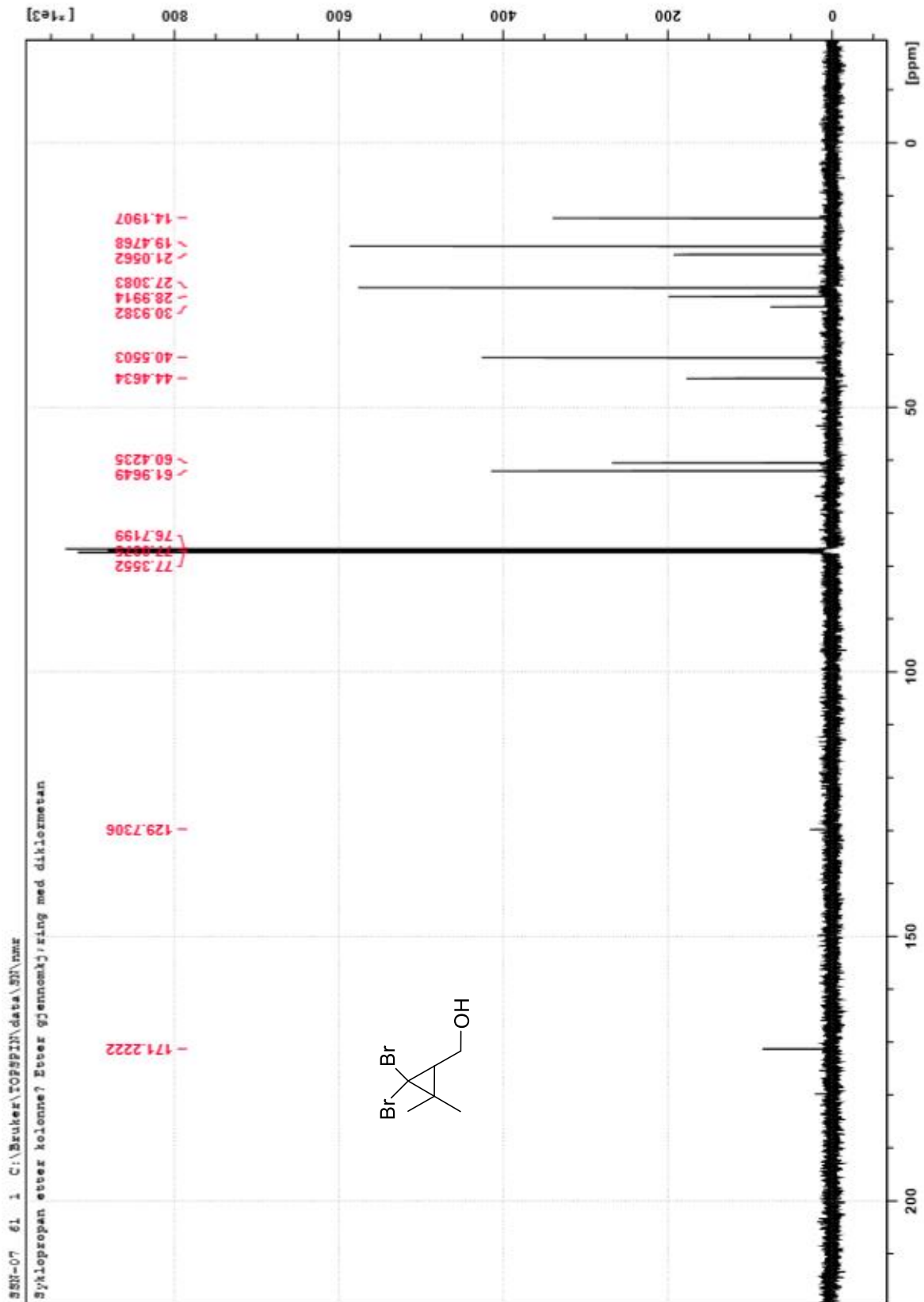
Figur 32: Viser ¹H-NMR-spekteret for 63



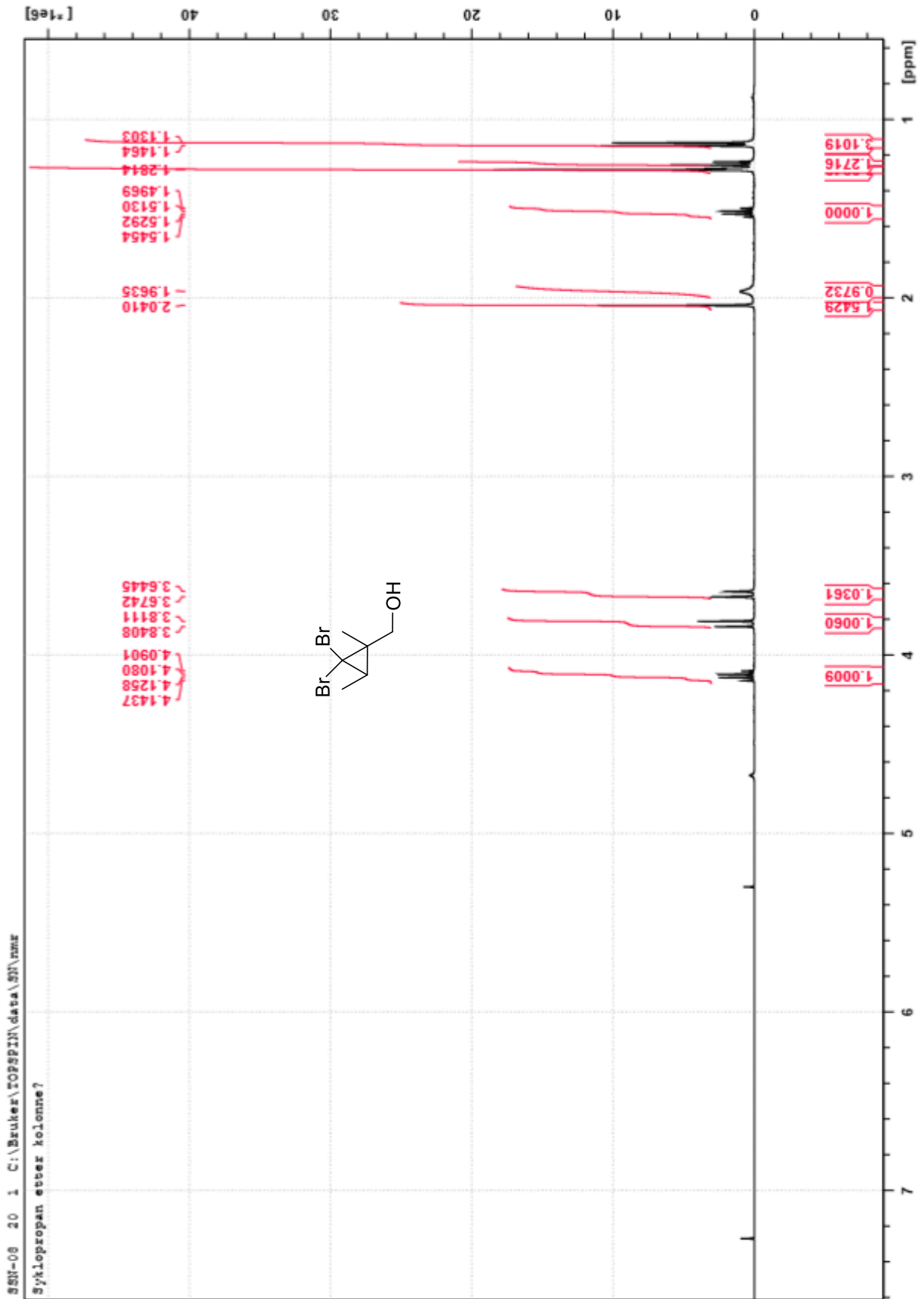
Figur 33: Viser ¹³C-NMR-spekteret for 63



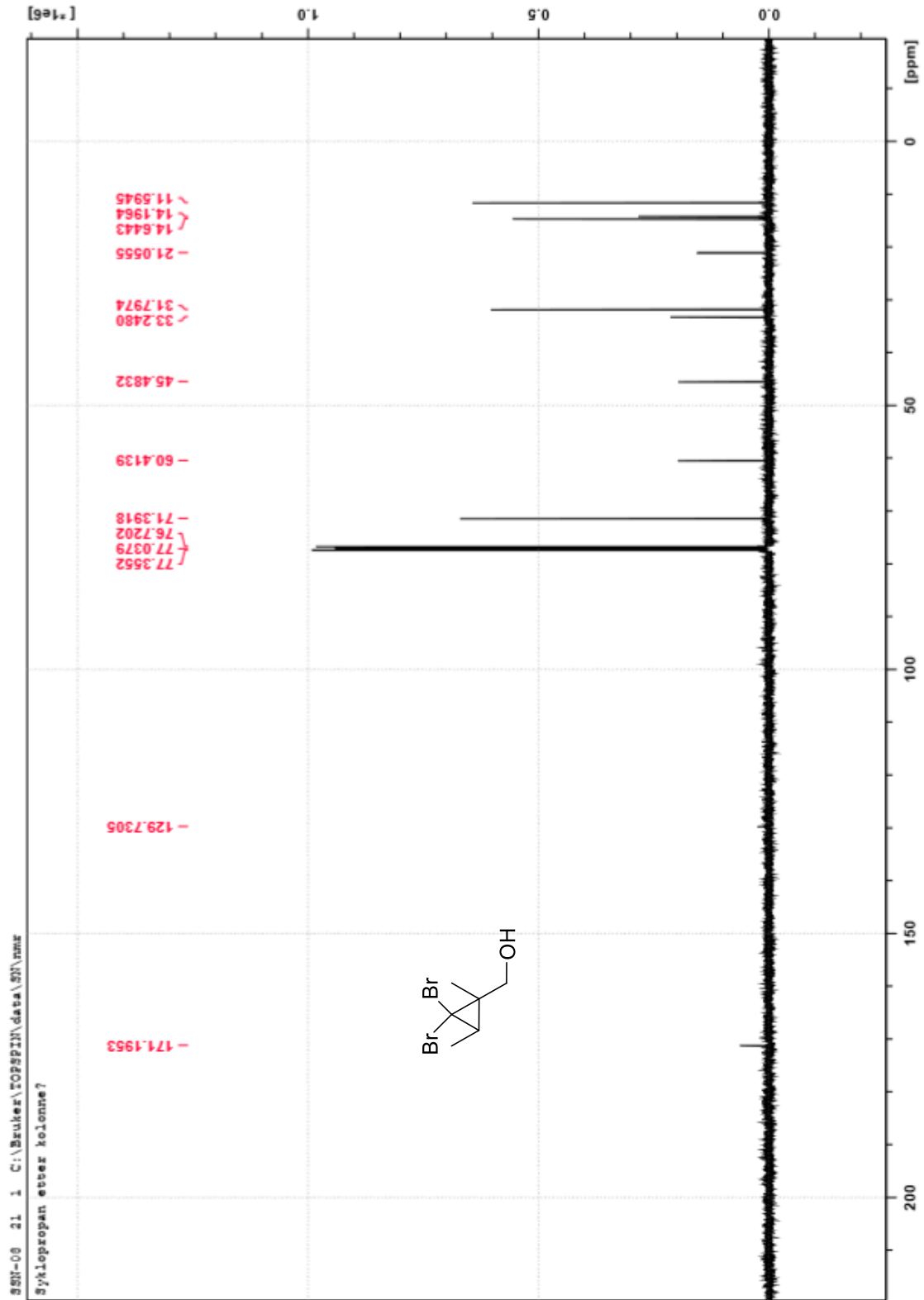
Figur 34: ¹H-NMR spekter for 48



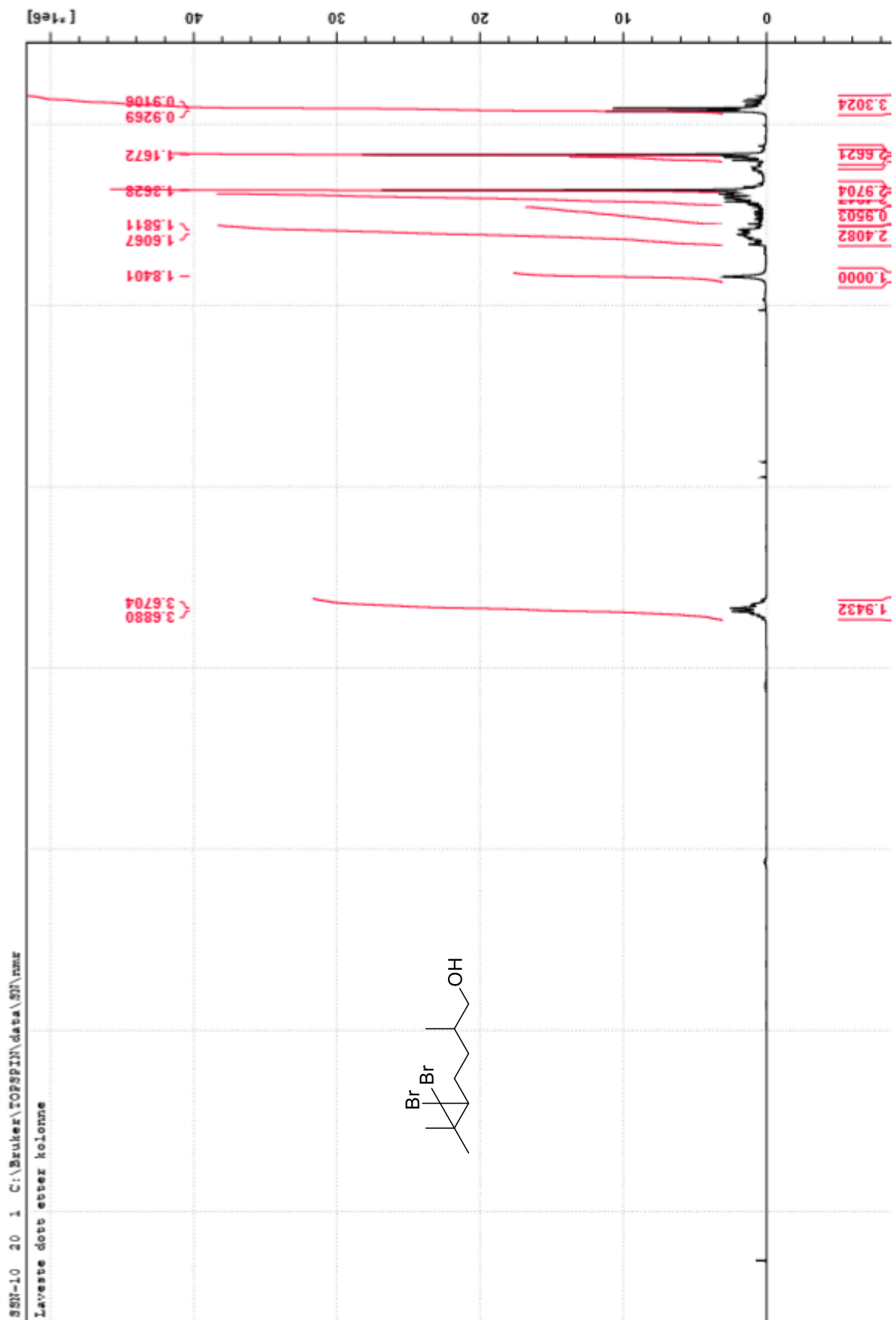
Figur 35: ^{13}C -NMR spekter for 48



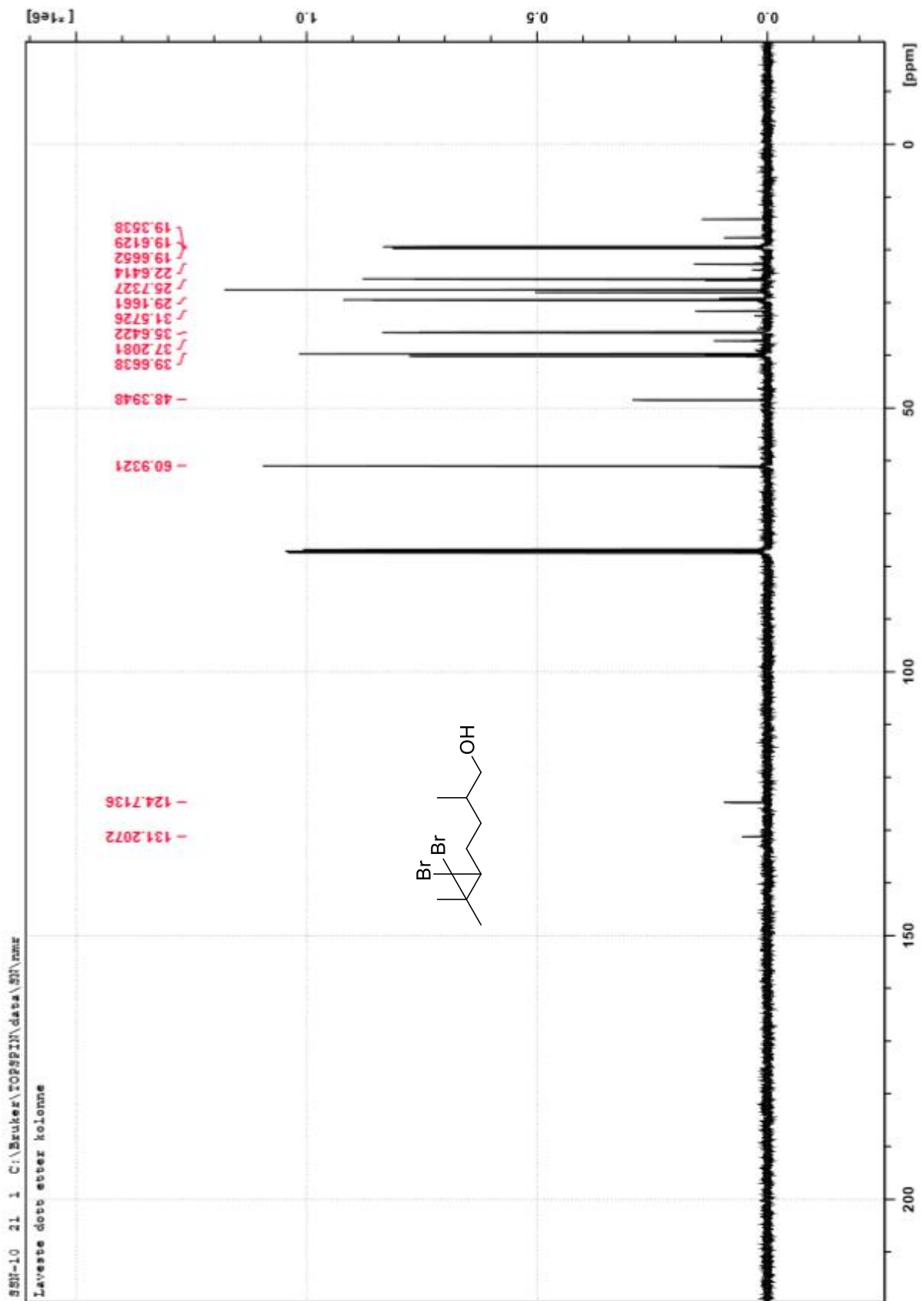
Figur 36: ^1H -NMR spekter for 50



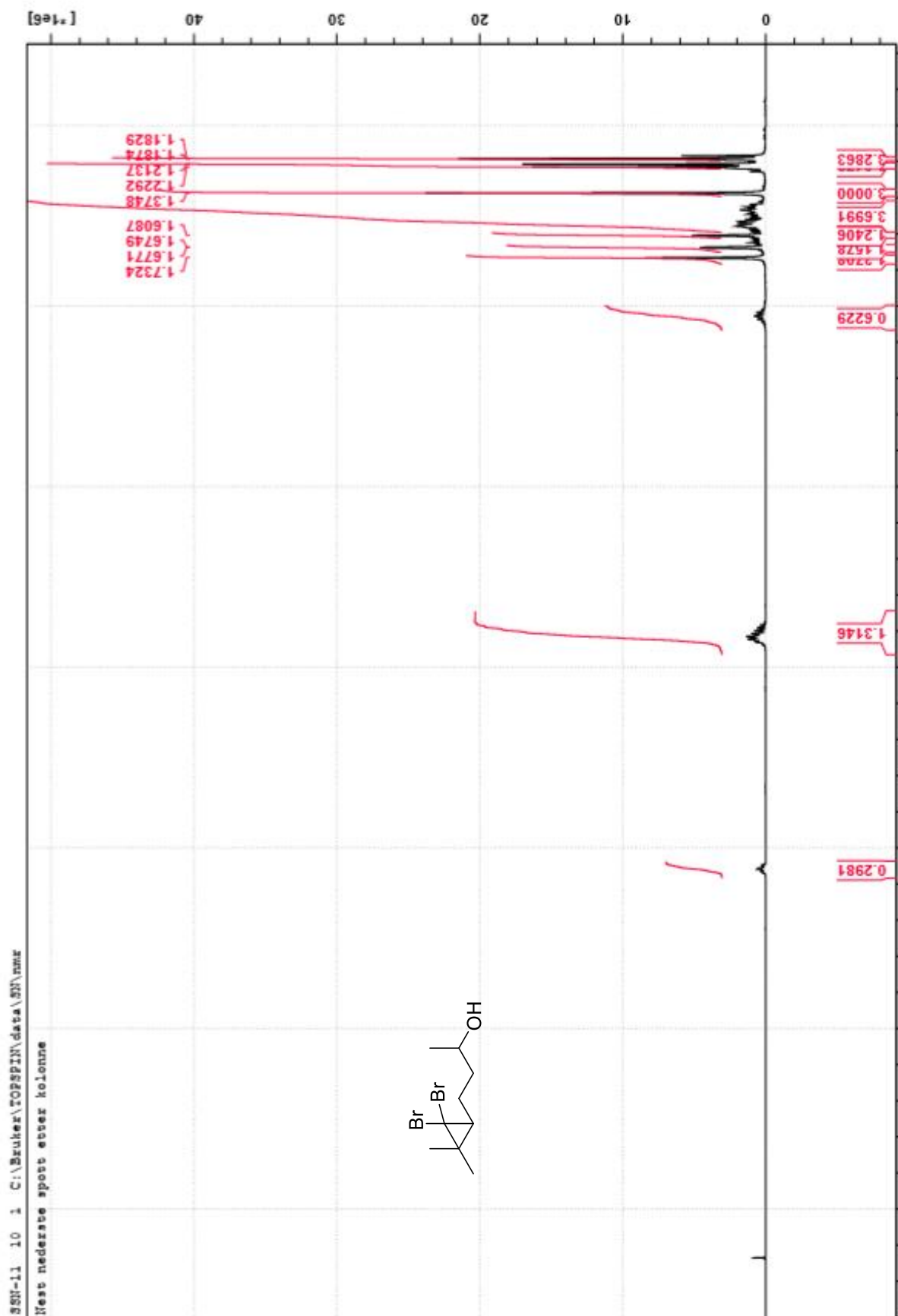
Figur 37: ^{13}C -NMR spekter for 50



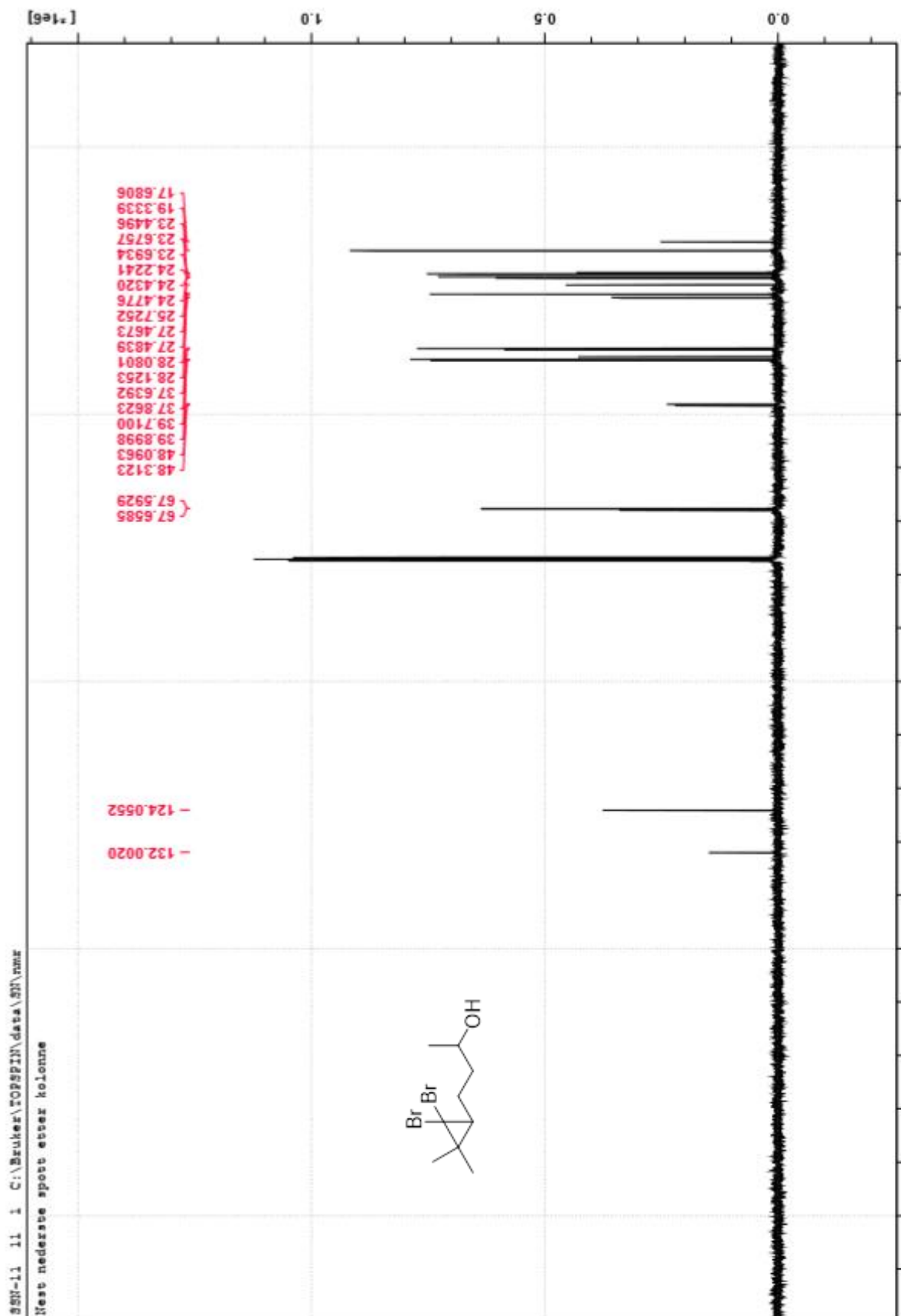
Figur 38: ^1H -NMR spekter for 52



Figur 39: ^{13}C -NMR spekter for 52



Figur 40: ^1H -NMR spekter for 54



Figur 41: ^{13}C -NMR spekter for 54

Article

Two-Phase Dibromocyclopropanation of Unsaturated Alcohols Using Flow Chemistry

Runa Berg Østby ^{1,*}, Terje Didriksen ², Simen Gjelseth Antonsen ³, Steinar Sollien Nicolaisen ³ and Yngve Stenstrøm ^{3,*}

¹ Faculty of Engineering, Østfold University College, P.O. Box 700, NO-1757 Halden, Norway

² SINTEF Industry, P.O. Box 124 Blindern, NO-0314 Oslo, Norway; terje.didriksen@sintef.no

³ Department of Chemistry, Biotechnology and Food Science, Norwegian University of Life Sciences, P.O. Box 5003, NO-1432 Ås, Norway; simen.antonsen@nmbu.no (S.G.A.); steinar.sollien.nicolaisen@nmbu.no (S.S.N.)

* Correspondence: runa.b.ostby@hiof.no (R.B.Ø.); yngve.stenstrom@nmbu.no (Y.S.); Tel.: +47-69608904 (R.B.Ø.); Tel.: +47-67232559 (Y.S.)

Received: 19 February 2020; Accepted: 17 May 2020; Published: 19 May 2020

Abstract: Dibromocyclopropanations are conventionally done by addition of dibromocarbene to alkenes under phase-transfer conditions in batch reactions using a strong base (50% NaOH (aq)), vigorous stirring and long reaction times. We have shown that cyclopropanation of unsaturated alcohols can be done under ambient conditions using continuous flow chemistry with 40% (*w/w*) NaOH (aq) as the base. The reactions were generally rapid; the yields were comparable to yields reported in the literature for the conventional batch reaction

Keywords: dibromocyclopropanation; CHBr₃; Makosza reaction; phase-transfer catalysis; flow chemistry; unsaturated alcohols

1. Introduction

gem-Dihalocyclopropanes are important substrates in organic synthesis and have been used as versatile intermediates for the syntheses of other interesting compounds like allenes [1,2], cumulenes [3], cyclopentadienes [4,5], cyclic acetals [6,7], and also for the synthesis of natural products [8–10].

Traditionally, *gem*-dihalocyclopropanes were made by the Doering-Hoffman reaction [11], in which dihalocarbene is generated from haloform and *tert*-butoxide in a non-polar solvent. One of the disadvantages of the Doering-Hoffman reaction is its high sensitivity to water, often reducing the yields significantly.

A two-phase dihalocyclopropanation reaction, achieved by vigorous stirring of a solution of the starting alkene and haloform (CHX₃, X = Cl, Br), with a concentrated (50% (*w/w*)) aqueous solution of sodium hydroxide, and a phase-transfer catalyst, partially solved this problem when published a decade later [12]. The discovery was important, as it was previously assumed that carbenes could not be formed in aqueous media. This reaction, known as the Makosza reaction, has been established as one of the most convenient methods for the synthesis of *gem*-dihalocyclopropanes [8,10,13].

Using unsaturated alcohols as substrates under Makosza conditions, the outcome of the reaction depends strongly on the structure of the alcohol and the precise conditions used, as the hydroxyl group/alkoxy anion may compete with the double bond for the dihalocarbene [8] and the yields of dihalocyclopropyl alcohols vary from excellent to low.

When Kleveland et al. [14] used the allylic alcohols linalool and geraniol as substrates in the Makosza reaction, they observed a surprising difference in the outcome of the reaction for the two alcohols. Linalool gave a rapid and regioselective reaction resulting in an excellent yield of the

dihalocyclopropane monoadducts, 5-(2,2-dichloro-3,3-dimethylcyclopropyl)-3-methyl-1-penten-3-ol (89%), and 5-(2,2-dibromo-3,3-dimethylcyclopropyl)-3-methyl-1-penten-3-ol (93%), while geraniol (with dichlorocarbene) gave a low yield of a mixture containing at least six components that partially decomposed under the attempted separations. Kleveland et al. [14] suggested that the difference in reactivity between linalool and geraniol is due to the primary allylic hydroxyl group competing for the dihalocarbene, and that this primary hydroxyl group has a retarding effect on the rate of addition of dihalocarbene. To alleviate the detrimental effect of the hydroxyl group, this group is often protected either as an acetal [8,15] or an ether [8,16] during dihalocyclopropanation of unsaturated alcohols.

In the traditional Makosza reaction, vigorous stirring is essential in order to obtain a large interface area between the two immiscible liquid phases, which is needed for the mass transfer between the two phases, catalyzed by the phase-transfer catalyst. Stirring speed is thus an important factor for both reaction rate, conversion, and yield [17–19].

Apart from vigorous stirring, intensification of mass transfer can also be obtained in capillary-microreactors [20]. Capillary microreactors, being a special type of continuous flow reactors, offer the benefits associated with microreactors/continuous flow reactors, such as increased control of reaction temperature and time, and thus increased selectivity [21–25].

In the capillary microreactors, reagent solutions are usually pumped into a simple T or Y mixer, and then led through a length of tube with a typical diameter of 100–1000 μm . The high surface-to-volume ratio and the small diameter of the tube result in rapid mass and heat transfer. By immersing the tube in a temperature-controlled bath, precise control of the reaction temperature can be achieved. In addition, the reaction time, determined by the volume of the tubing and the reagent flow, is not affected by the long time used for the addition of the reagents as is the case in batch reactors.

When two immiscible liquids flow through a narrow tube, they often form alternating slugs of the two liquids [26]. Due to the velocity dispersion of the liquid flow, where the velocity is highest in the center, and zero at the walls, internal circulation occurs within the liquid slugs [27] as illustrated in Figure 1. This effect results in a good mass transfer, enabling reaction rates comparable to those obtained in batch reactions, even for two-phase liquid-liquid reactions usually requiring vigorous stirring. Slug-flow reactors have been successfully used, e.g., for nitration of aromates [20], arylation of arylbromides [28], and Wittig reactions [29].

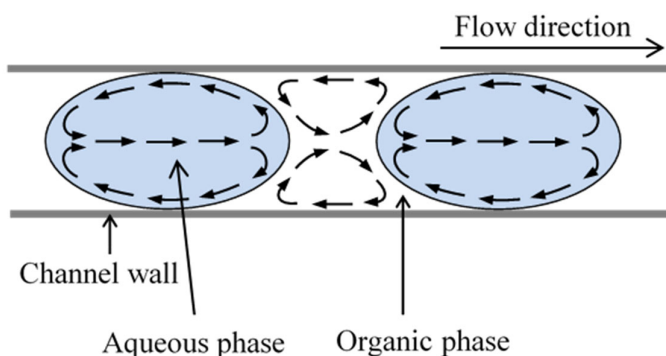


Figure 1. Internal circulation in alternating slugs of two immiscible liquids in a microchannel enhances mass transfer within and between the slugs. Internal flow is shown relative to the bulk velocity.

Previously, we have shown [30] that flow chemistry in a capillary microreactor can be a feasible alternative to batch chemistry for the Makosza reaction. Similarly, von Keutz et al. achieved *gem*-dichlorocyclopropanation of alkenes using packed bed flow reactors [31].

In our case, moderate to excellent yields of dibromocyclopropanes were obtained in short reaction times from e.g., disubstituted alkenes. This encouraged us to use the same reactor system on

unsaturated alcohols to see whether it would be possible to omit the protection/deprotection steps, and in addition, to get an indication of the obtainable yields when the hydroxy group is left unprotected. The setup for our experiments is shown in Figure 2.

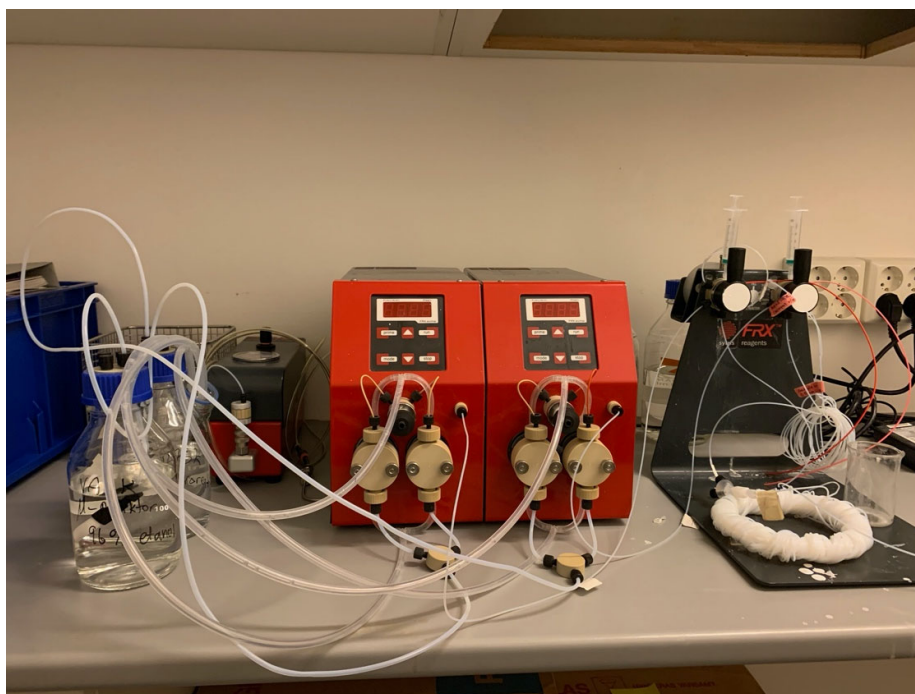
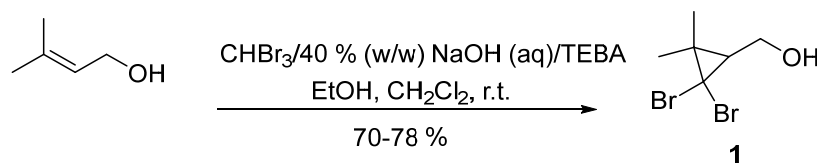


Figure 2. Modified flow chemistry toolkit FRX200 from Syrris Ltd.

2. Results and Discussion

The unsaturated alcohols selected for testing under Makosza conditions are shown in Table 1. Benzyltriethylammonium chloride (TEBA) was used as the phase-transfer catalyst, and bromoform was the dibromocarbene-precursor, as shown for 3-methyl-2-buten-1-ol in Scheme 1.



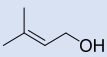
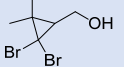
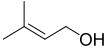
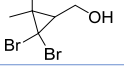
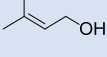
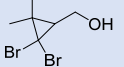
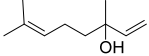
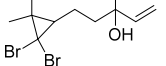
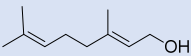
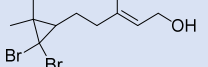
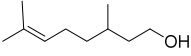
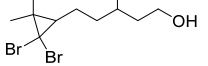
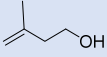
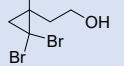
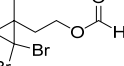
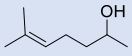
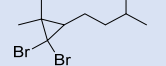

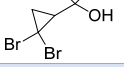
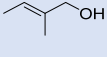
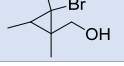
Scheme 1. Dibromocyclopropanation of 3-methyl-2-buten-1-ol under phase-transfer catalyst (PTC) conditions.


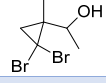
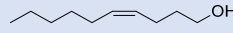

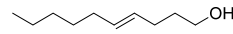

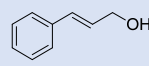
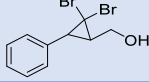
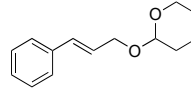
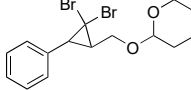
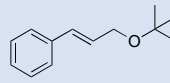
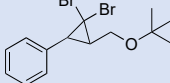
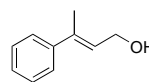
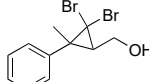
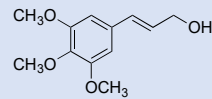
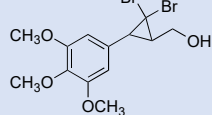
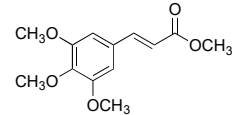
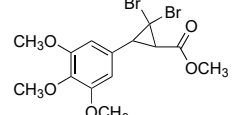
In the traditional two-phase system, a 50% (*w/w*) solution of NaOH is used [8–10]. However, during initial experiments, we observed clogging of the capillary systems due to the viscosity of the NaOH solution. This problem was solved by reducing the base concentration to 40% (*w/w*) [30]. Other bases, both potassium hydroxide and lithium hydroxide were also tested without improving the yields. For both LiOH and KOH, the yields were significantly lower, and with LiOH we experienced severe clogging of the capillary tubes. Using a ratio of alkene:bromoform:TEBA of 1:1.5:0.044 together with 40% (*w/w*) NaOH solution in an aqueous-to-organic flow ratio (AO ratio) of 4, good to excellent yields of dibromocyclopropanes could be obtained [30].

Employing the same conditions to 3-methyl-2-buten-1-ol gave a yield of 70% of the corresponding dibromocyclopropane **1** (Table 1, entry 1). By increasing the amount of bromoform from 1.5 equivalents, the yield could be increased to 74% (using 2 equivalents), and 78% (using 2.5

equivalents). (Table 1, entries 2–3). For subsequent experiments a 1:2 or 1:2.5 ratio of alkene to bromoform was used. Several unsaturated alcohols were subjected to these conditions.

Table 1. Dibromocyclopropanation of a selection of unsaturated alcohols using 40% (w/w) NaOH (aq) at AO ratio: 4.^a

Entry	Substrate	CHBr ₃ (eq) ^b	Product	Yield (%)	Litt. Yield (%) ^c	Reference
1		1,5		(1) 70 ^d	36	[32]
2		2		(1) 74 ^d	36	[32]
3		2,5		(1) 78 ^d	36	[32]
4		2		(2) 89 ^d	93	[14]
5		2		(3) - ^e	-	[14]
6		2,5 ^f		(4) 57 ^g	-	-
7		2		(5) 47 ^g	58	[33]
				(6) 3 ^g	-	-
8		2		(7) 77 ^g	-	-
9		2		(8) - ^h	2	[34]
10		2		(9) 62 ^{d,i}	45	[14]

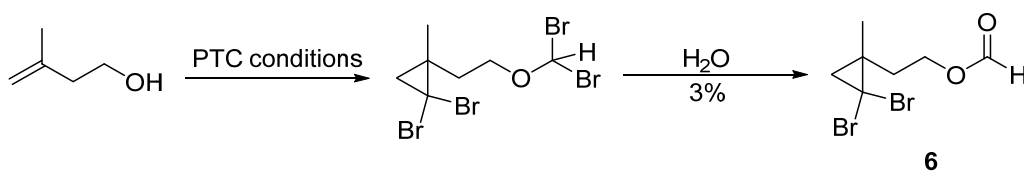
11		2		(10)	49 ^{g,j}	62 ^k	[14]
12		2		(11) ^l	- ^m	-	-
13		2		(12) ^l	- ^m	-	-
14		2		(13)	- ^m	-	-
15		2		(14)	- ^m	-	-
16		2		(15)	- ^m	-	-
17		2		(16)	41 ^g	-	-
18		2		(17)	- ^m	-	-
19		2		(18)	- ^m	-	-

^a Conditions unless otherwise stated: [alkene] = 1.4 M, 4.2–4.3 mol% TEBA (relative to alkene), 0.6 vol% ethanol (in CH₂Cl₂). Room temperature, 25 mL PTFE tube reactor. Total flow rate of 0.50 mL/min. Aqueous to organic flow ratio (AO ratio): 4. Reaction time 50 min. ^b Relative to alkene. ^c Literature yields are only given for Makosza conditions using TEBA. ^d Estimated using ¹H NMR spectra of the isolated reaction mixture. ^e Recovery of starting material not attempted (due to complexity of reaction mixture.) ^f With only two equivalents, the reaction did not go to completion. ^g Isolated yield. ^h Recovery of starting material not attempted (due to the low boiling point (< bp. of bromoform)). ⁱ 0,8% ethanol added. ^j No ethanol added. ^k Ratio of diastereoisomers 45:55. ^l As a racemate. ^m The substrate did not react, and >90% was recovered.

When the tertiary dienol linalool was subjected to our flow chemistry conditions, regioselective addition to the trisubstituted double bond occurred, and the dibromocyclopropane **2** was obtained in 89% yield. (Table 1, entry 4). The primary dienol geraniol, however, yielded a mixture of several products, according to ^1H NMR and ^{13}C NMR data, (Table 1, entry 5) as was also observed by Kleveland et al. [14] with dichlorocarbene. No attempts were made to separate the complex mixture, and since our observations were in accordance with the previously reported results, we did not study the reaction of geraniol with dihalocarbenes any further.

Intrigued by this result, we subjected several other alcohols to this reaction. From citronellol, that only differ structurally from geraniol by the absence of the allylic double bond, the dibromocyclopropane **4** was obtained as a mixture of diastereomers (approximately 1:1) in 57% yield when 2.5 equivalents of bromoform (compared to alkene) were used (Table 1, Entry 6). With only two equivalents, the reaction did not go to completion.

When 3-methyl-3-buten-1-ol was used as the substrate, the dibromocyclopropyl alcohol **5** was obtained in moderate yield (47%) after chromatography (Table 1, entry 7). In addition, a small amount of the formate ester **6** (3%) was isolated. The presence of the formate ester can be explained by insertion of dibromocarbene at the O-H bond and subsequent hydrolysis (Scheme 2).



Scheme 2. Insertion of dibromocarbene at the O-H bond and subsequent hydrolysis.

The secondary alcohol, 6-methyl-5-hepten-2-ol, gave a good yield of the dibromocarbene adduct **7** as a mixture of diastereomers (approximately 1:1) (Table 1, entry 8).

When the tertiary alcohol, 2-methyl-3-buten-2-ol, was used as a substrate only small amounts of the starting material could be seen (Table 1, entry 9). This is in accordance with the literature where this alcohol has been reported to react sluggishly when subjected to dichlorocarbene under phase-transfer conditions [14].

Kleveland et al. [14] reported a 45% yield of the dibromocarbene adduct **9** as a mixture of diastereomers (1:1) when (*E*)-2-methyl-2-buten-1-ol was used as the starting material. Under our flow chemistry conditions, only one diastereomer was detected and the adduct **9** was obtained in 62% yield (Table 1, entry 10).

The secondary alcohol, 3-methyl-3-buten-2-ol (Table 1, entry 11), yielded a dibromocarbene adduct **10** as a mixture of diastereomers (2:3) according to ^1H NMR. Purification of the mixture through a plug of silica yielded the dibromocarbene adduct **10** (49%) as a mixture of diastereomers (1:3).

In order to further investigate the scope and limitations, we tested the reaction conditions on some non-terpene-like compounds. First, both (*Z*)- and (*E*)-dec-4-en-1-ol were tested (Table 1, entries 12 and 13). The reactions were not successful, as we recovered most of the starting material in both cases. However, for both the geometric isomers, just below 10% of the material converted into a complex, inseparable mixture.

Next, we turned to styrene derived alcohols (Table 1, entries 14–19). In the experiments with cinnamyl alcohol, only pure starting material was recovered. Nishii et al. [35] have prepared the dihalocyclopropane product via a Makosza reaction. However, they protected the hydroxyl group as the corresponding tetrahydropyran. The use of protection groups has been shown to increase the yield for this type of compounds, but the styrene derived compounds are still known to be low yielding under these conditions [36]. As control experiments, we did reactions with cinnamyl alcohol protected as the corresponding tetrahydropyran and also as the *tert*-butylether, (*E*)-(3-(*tert*-butoxy)prop-1-en-1-yl)benzene (Table 1, entries 15 and 16). In both cases, only unreacted starting material was isolated. This can possibly be explained by the reaction time and the reaction

temperature used in our system, as Nishii et al. used both a higher temperature and longer reaction times for similar compounds. Nishii et al. also used a 50% (*w/w*) NaOH (aq) solution, which, as previously mentioned, does not work well with the narrow tubes in the microreactor. Even when doubling the reaction times, our attempts were unsuccessful.

Increasing the reaction temperature above the normal boiling point of dichloromethane would require using a back-pressure regulator to pressurize the flow reactor. Our experience is that this is not feasible due to an increased propensity for clogging of the reactor system.

As Nishii et al. had success with trisubstituted alkenes [35], (*E*)-3-phenylbut-2-en-1-ol was tested in the reaction (Table 1, Entry 17). The desired product was obtained in 41% yield, confirming a higher reactivity of a trisubstituted cinnamyl alcohol compared to the disubstituted one (Table 1, entry 14).

In order to investigate whether the aromatic portion of the molecule affected the reactivity, (*E*)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-ol (Table 1, entry 18) was reacted under the same conditions, but also for this substrate we isolated only starting material. The same occurred with the corresponding ester, methyl (*E*)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)acrylate (Table 1, Entry 19).

In conclusion, flow chemistry was successfully used for dibromocyclopropanation of several unsaturated alcohols under phase-transfer catalysis (PTC) using 40% (*w/w*) NaOH (aq) as the base. Moderate to excellent yields were achieved in less time than for batch chemistry, depending on the structure of the alcohol. The trisubstituted alkenes (Table 1, entries 1–6, 8, 10, 17) generally gave better yields than the *gem*-disubstituted (Table 1, entries 7 and 11) and monosubstituted alkenes (Table 1, entry 9). This has been explained as resulting from the increased nucleophilicity of the trisubstituted double bonds compared to di- and monosubstituted double bonds when the substituents are electron donating [8,37,38]. Our flow chemistry conditions were unsuccessful for the 1,2-disubstituted alkenes, including the aromatic ones (Table 1, entries 12–16, 18–19). This is in accordance with the literature [37]. For the successful reactions, yields comparable to the ones reported from ordinary batch-reactions were achieved. Thus, the use of microreactor technology should be an interesting alternative for the Makosza reaction (compared to the traditional batch chemistry) giving access to the general benefits of flow chemistry. The problems with the high viscosity of the concentrated base solutions and the narrow temperature window are clear limitations of this method.

3. Experimental Section

3.1. General Information

All chemicals were purchased from commercial suppliers and used without further purification unless otherwise stated. Preparation of 3-methyl-3-buten-2-ol [39], (*E*)-2-methyl-2-buten-1-ol [40], 2-(cinnamyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran [41], (*E*)-(3-(*tert*-butoxy)prop-1-en-1-yl)benzene [42,43], (*E*)-3-phenylbut-2-en-1-ol [44], and (*E*)-3-(3,4,5-trimethoxy-phenyl)-prop-2-en-1-ol [45] was done as described in the literature. The spectral data were in accord with those reported.

Analytical thin layer chromatography (TLC) was performed on Merck DC-Alufolien Kieselgel 60 F254. Compounds were visualized by KMnO₄ stain. Flash column chromatography was performed on silica gel (Merck Kieselgel 60, (0.040–0.063 mm, 230–400 Mesh ASTM) or VWR Chemicals/BDH Prolabo Normasil 60 (40–63 μm). In order to degas the dichloromethane, it was sonicated for 15 min prior to use in the flow system. Mass Spectrometry was performed on an Autospec Ultima (Micromass Ltd. Manchester, England) using electron ionization (EI, 70 eV).

NMR spectra were recorded on a Bruker Ascend™ 400 using CDCl₃ as a solvent and TMS as a reference. ¹H NMR spectra were recorded at 400 MHz, and ¹³C NMR spectra were recorded at 100 MHz. IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer Spectrum BX series FT-IR spectrophotometer using a ZnSe HATR cell (Horizontal Attenuated Total Reflectance). The flow instrumentation apparatus used was the flow chemistry toolkit FRX200 from Syrris Ltd. fitted with 2 Frx200 pumps, a reagent module containing one Syrris sample loop (PTFE, 5 mL, 0.5 mm i.d.) and one 1.0 mL sample loop (PTFE, 0.5 mm i.d.), a Y-mixer (Tube Reactor 3 input Adaptor (PCTFE) from Syrris Ltd.), and a 25 mL tube reactor (PTFE, 0.8 mm i.d.).

3.2. Representative Procedure, Synthesis of (2,2-Dibromo-3,3-dimethylcyclopropyl)methanol (1)

A 1.0 mL sample loop (PTFE) containing a solution of 3-methyl-2-buten-1-ol (1.43 mmol), CHBr_3 (2.86 mmol), 4.3 mol% TEBA (relative to the alkene) and 0.6 vol.% ethanol (absolute) in CH_2Cl_2 , and a 5 mL sample loop (PTFE, Syrris Ltd.) containing 40% (*w/w*) NaOH (aq) solution, was used. The filling of the 40% (*w/w*) NaOH (aq) solution into the sample loop was done very slowly and with great care, due to the high viscosity of the strongly basic NaOH solution and danger of spillage due to pressure build-up. The two solutions were simultaneously introduced into the flow system at a total flow rate of 0.50 mL/min (flow rate NaOH (aq): 0.40 mL/min, flow rate organic solution: 0.10 mL/min) at room temperature, i.e., a residence time of 50 min and an AO flow ratio of 4. The mixture was fed into brine (50 mL), and the flow was collected for 77 min at this flow rate, and then for 4 min at 2×1.5 mL/min (to flush the system). The pressure in the system was 1–4 bar. The reaction mixture was extracted with ethyl acetate (100 mL + 3×50 mL), and the combined organic phases were washed with brine (2×50 mL), dried (MgSO_4), filtered and concentrated in vacuo. The residue was purified by filtering it through a plug made of 0.5 cm silica and 0.5 cm Celite 545 coarse (calcined) using ethyl acetate as the eluent. Concentration in vacuo yielded a mixture (0.31 g) containing (2,2-dibromo-3,3-dimethylcyclopropyl)-methanol (1): 3-methyl-2-buten-1-ol: bromoform; 88:2:10 according to ^1H NMR. Estimated yield of 1: 0.27 g, 74%, corresponding to a space time yield of ~ 0.25 mol L^{-1} h^{-1} . The spectral data were in accordance with the literature [46].

3.3. Synthesis of 5-(2,2-Dibromo-3,3-dimethylcyclopropyl)-3-methyl-1-penten-3-ol (2)

Yield: 0.48 g of a mixture containing the dibromide 2: linalool: bromoform; 87:9:4, according to ^1H and ^{13}C NMR. Estimated yield of the dibromide 2, 0.42 g, 89%. The spectral data were in accordance with the literature [14].

3.4. Synthesis of 5-(2,2-Dibromo-3,3-dimethylcyclopropyl)-3-methylpentan-1-ol (4)

2.5. equivalents of CHBr_3 per equivalent of 3,7-dimethyl-6-octen-1-ol were used. The crude mixture was purified by column chromatography (silica, hexane: ethyl acetate; 80:20) yielding the dibromide 4 (0.27 g, 57%) as a mixture of diastereomers (approximately 1:1), according to ^1H and ^{13}C NMR. IR (HATR) ν_{max} : 3338 (br, s), 2954 (s), 2926 (s), 2870 (s), 1456 (s), 1375 (s), 1147 (m), 1109 (m), 1060 (s, shoulder), 1006 (m), 963 (m), 756 (s), 740 (s) cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.89 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 1.07–1.52 (m, 6H), 1.14 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.52–1.65 (m, 2H), 1.75 (br s, 1H), 3.57–3.72 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 19.2 and 19.3 (CH_3), 19.5 and 19.6 (CH_3), 25.4 and 25.5 (CH_2), 27.4 (CH_3), 27.9 and 28.0 (C), 29.3 and 29.4 (CH), 35.5 and 35.6 (CH_2), 39.6 (CH_2), 40.01 and 40.05 (CH), 48.3 and 48.4 (C), 60.9 (CH_2). MS, m/z (%) = 246 (M-HBr, 1)/248 (M-HBr, 1), 228 (10)/230 (10), 167 (40), 163 (34), 162 (33), 149 (28), 107 (13)/109 (14), 93 (24)/95 (23), 83 (100), 81 (56), 69 (74) and 67 (49). HRMS (EI^+) m/z 325.9878. (calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}^{79}\text{Br}_2$, 325.9881).

3.5. Synthesis of 2-(2,2-Dibromo-1-methylcyclopropyl)ethan-1-ol (5) [33] and 2-(2,2-Dibromo-1-methylcyclopropyl)ethyl formate (6)

The crude mixture was purified by column chromatography (silica, pentane: ethyl acetate; 85:15) yielding the dibromide 5 (0.17 g, 47%) and 2-(2,2-dibromo-1-methylcyclopropyl)ethyl formate (6) (0.01 g, 3%), both as oils. The spectral data for the dibromoalcohol 5 were in accordance with literature [33]. 2-(2,2-Dibromo-1-methylcyclopropyl)ethyl formate (6). IR (HATR) ν_{max} : 2963 (s), 2928 (s), 2873 (m), 1725 (s), 1454 (m), 1430 (m), 1383 (m), 1260 (m), 1167 (s), 733 (s), 694 (s) cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.40 (s, 3H), 1.44 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 1.51 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 1.92–2.13 (m, 2H), 4.36 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 8.05 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 22.6 (CH_3), 27.4 (C), 34.5 (CH_2), 36.9 (CH_2), 37.7 (C), 61.3 (CH_2), 160.9 (CH). MS, m/z (%) = 238 (M-HCOOH, 14)/240 (M-HCOOH, 29)/242 (M-HCOOH, 14), 211 (10)/213 (18)/215 (9), 159 (72)/161 (70), 131 (11)/133 (12), 119 (4)/121 (3), 80 (100) and 79 (87). HRMS (EI^+) m/z 237.8994 (calcd for $\text{C}_6\text{H}_8^{79}\text{Br}_2$, 237.8993).

3.6. Synthesis of 4-(2,2-Dibromo-3,3-dimethylcyclopropyl)butan-2-ol (7)

The crude product was purified by column chromatography (silica, pentane: ethyl acetate; 80:20), yielding the dibromide **7** as a mixture of diastereomers (approximately 1:1, according to ^1H and ^{13}C NMR) as an oil (0.33 g, 77%). IR (HATR) ν_{max} : 3343 (br, s), 2962 (s), 2926 (s), 2868 (s), 1456 (s), 1374 (s), 1335 (m), 1308 (m), 1128 (s, shoulder), 1090 (s), 773 (s), 745 (s) cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.16 and 1.17 (s, 3H), 1.20 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.58 (s, 1H), 1.15–1.75 (m, 5H), 3.75–3.87 (m, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 19.3 (CH_3), 23.7 (CH_3), 24.2 and 24.4 (CH_2), 27.42 and 27.44 (CH_3), 28.0 and 28.1 (C), 37.6 and 37.8 (CH_2), 39.7 and 39.9 (CH), 48.0 and 48.3 (C), 67.6 and 67.7 (CH). MS, m/z (%) = 280 (M- H_2O , 18)/282 (M- H_2O , 34)/284 (M- H_2O , 16), 238 (3)/240 (5)/242 (2), 173 (37)/175 (35), 159 (4)/161 (4), 122 (40), 121 (83), 107 (46), 94 (100), 79 (53) and 77 (40). HRMS (EI^+) m/z 279.9461 (calcd for $\text{C}_9\text{H}_{14}^{79}\text{Br}_2$, 279.9462).

3.7. Synthesis of (2,2-dibromo-1,3-dimethylcyclopropyl)methanol (9)

Yield: a mixture (0.25 g) containing (2,2-dibromo-1,3-dimethylcyclopropyl)methanol (**9**): (*E*)-2-methyl-2-buten-1-ol: ethyl acetate: bromoform; 87:3:2:8 according to ^1H NMR. Estimated yield of **9**: 0.22 g, 62%. The spectral data were in accordance with the literature [14]. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.11 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.25 (s, 3H), 1.49 (q, $J = 6.5$ Hz, 1H), 1.85–1.98 (m, 1H), 3.63 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 3.80 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 11.6 (CH_3), 14.6 (CH_3), 31.8 (CH), 33.2 (C), 45.4 (C), 71.3 (CH_2).

3.8. Synthesis of 1-(2,2-dibromo-1-methylcyclopropyl)ethanol (10)

The crude product (containing a mixture of diastereomers 2:3, according to ^1H NMR) was purified by filtration through a small plug of silica/Celite 545 coarse (calcined), using hexane, then hexane: ethyl acetate (9:1), as eluents. The dibromide **10** was obtained as a mixture of diastereomers (approximately 1:3, according to ^1H and ^{13}C NMR) as an oil (0.18 g, 49%). The spectral data were in accordance with the literature [14]. Major isomer: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.32–1.37 (m, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.46 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 1.64 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 1.60–1.75 (m, 1H), 3.69 (q, $J = 6.3$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 16.7 (CH_3), 19.1 (CH_3), 33.3 (C), 34.6 (CH_2), 35.0 (C), 73.9 (CH). Minor isomer: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.27 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.41 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 1.47 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 3.77 (q, $J = 6.5$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 15.6 (CH_3), 19.2 (CH_3), 32.7 (CH_2), 34.2 (C), 38.1 (C), 73.7 (CH).

3.9. Synthesis of (2,2-dibromo-3-methyl-3-phenylcyclopropyl)methanol (16)

The crude product was purified by filtration through a small plug of silica/celite 545 coarse (calcined), using hexane, then hexane: ethyl acetate (9:1), as eluents to yield compound **16** as an oil (189 mg, 41%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.44–7.15 (m, 5H), 3.93 (dd, $J = 11.9, 7.5$ Hz, 1H), 3.84 (dd, $J = 11.9, 6.8$ Hz, 1H), 2.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 1.49 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 155.48, 128.37, 128.34, 128.18, 127.16, 125.68, 59.81, 41.51, 38.22, 29.61, 24.56.

Author Contributions: Conceptualization, R.B.Ø., Y.S. and T.D.; methodology, R.B.Ø., Y.S. and T.D.; investigation, R.B.Ø. (main part), T.D., S.G.A., Y.S. and S.S.N.; writing—original draft preparation, R.B.Ø.; writing—review and editing, R.B.Ø., Y.S., T.D. and S.G.A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: Professor Dag Ekeberg is greatly acknowledged for performing mass spectrometry analysis.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Skattebøl, L. The synthesis of allenes from 1,1-dihalocyclopropane derivatives and alkyllithium. *Acta Chem. Scand.* **1963**, *17*, 1683–1693, doi:10.3891/acta.chem.scand.17-1683.
2. Kleveland, K.; Skattebøl, L. Chemistry of gem-dihalocyclopropanes. IX. Stereospecific synthesis of conjugated meso-diallenes. *Acta Chem. Scand., Ser. B* **1975**, *B29*, 191–196, doi:10.3891/acta.chem.scand.29b-019.
3. Skattebøl, L. Novel route to cumulenes. Addition of dihalocarbenes to 2,5-dimethyl-2,3,4-hexatriene. *Tetrahedron Lett.* **1965**, *6*, 2175–2179, doi:10.1016/S0040-4039(00)90174-6.
4. Holm, K.H.; Mohamed, E.A.; Skattebøl, L. Chemistry of dihalocyclopropanes. XXV. The influence of halogen substituents on the vinylcyclopropylidene-cyclopentenylidene rearrangement. *Acta Chem. Scand.* **1993**, *47*, 500–505, doi:10.3891/acta.chem.scand.47-0500.
5. Holm, K.H.; Skattebøl, L. The vinylcyclopropylidene - cyclopentadiene rearrangement. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 2347–2350, doi:10.1016/S0040-4039(01)83760-6.
6. Arct, J.; Skattebøl, L.; Stenstrøm, Y. Chemistry of gem-dihalocyclopropanes. XIX. Formation of 3-oxabicyclo[3.1.0]hexane derivatives by intramolecular insertion of cyclopropylidenes. *Acta Chem. Scand., Ser. B* **1983**, *B37*, 681–686, doi:10.3891/acta.chem.scand.37b-0681.
7. Skattebøl, L.; Stenstrøm, Y.; Stjerna, M.B. Chemistry of gem-dihalocyclopropanes. XXIII. Reaction of some gem-dibromocyclopropyl acetals with methylolithium. *Acta Chem. Scand., Ser. B* **1988**, *B42*, 475–483, doi:10.3891/acta.chem.scand.42b-0475.
8. Fedorynski, M. Syntheses of gem-dihalocyclopropanes and their use in organic synthesis. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1099–1132, doi:10.1021/cr0100087.
9. Banwell, M.G.; Beck, D.A.S.; Stanislawski, P.C.; Sydnes, M.O.; Taylor, R.M. Pyrroles and gem-dihalocyclopropanes as building blocks for alkaloid synthesis. *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 1589–1600, doi:10.2174/138527205774370469.
10. Banwell, M.G.; Lehmann, A.L.; Menon, R.S.; Willis, A.C. New methods for the synthesis of certain alkaloids and terpenoids. *Pure Appl. Chem.* **2011**, *83*, 411–423, doi:10.1351/PAC-CON-10-10-21.
11. Doering, W.V.E.; Hoffmann, A.K. The addition of dichlorocarbene to olefins. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 6162–6165, doi:10.1021/ja01652a087.
12. Małkosza, M.; Wawrzyniewicz, M. Reactions of organic anions. XXIV. Catalytic method for preparation of dichlorocyclopropane derivatives in aqueous medium. *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10*, 4659–4662, doi:10.1016/S0040-4039(01)88775-X.
13. Małkosza, M.; Fedorynski, M. Phase transfer catalysis in dichlorocarbene chemistry: Basic principles and specific features. *Russ. Chem. Bull.* **2011**, *60*, 2141–2146, doi:10.1007/s11172-011-0332-3.
14. Kleveland, K.; Skattebøl, L.; Sydnes, L.K. Chemistry of gem-dihalocyclopropanes. XI. Reactions of dihalocarbenes with allylic alcohols. *Acta Chem. Scand. Ser. B* **1977**, *B31*, 463–468, doi:10.3891/acta.chem.scand.31b-0463.
15. Bolesov, I.G.; Solov'eva, V.A.; Baird, M.S. Functionalized α -bromocyclopropylmagnesium bromides: Generation and some reactions. *Russ. J. Org. Chem.* **2013**, *49*, 1580–1593, doi:10.1134/S1070428013110043.
16. Piers, E.; Morton, H.E.; Nagakura, I.; Thies, R.W. Seven-membered ring annulation and spiro-annulation processes via preparation and thermal rearrangement of β -(2-vinylcyclopropyl) α,β -unsaturated ketones. *Can. J. Chem.* **1983**, *61*, 1226–1238, doi:10.1139/v83-219.
17. Skattebøl, L.; Aziz Abskharoun, G.; Greibrokk, T. Chemistry of gem-dihalocyclopropanes VIII A convenient preparation of gem-dibromocyclopropanes. *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 1367–1370, doi:10.1016/S0040-4039(01)95945-3.
18. Sirovski, F.; Gorokhova, M.; Ruban, S. Phase-transfer catalysis: Kinetics and mechanism of dichlorocyclopropane formation in liquid/liquid and solid/liquid systems. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2003**, *197*, 213–222, doi:10.1016/S1381-1169(02)00593-9.
19. Starks, C.M. Interfacial area generation in two-phase systems and its effect on kinetics of phase transfer catalyzed reactions. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 6261–6274, doi:10.1016/S0040-4020(99)00203-3.
20. Dummann, G.; Quittmann, U.; Groschel, L.; Agar, D.W.; Worz, O.; Morgenschweis, K. The capillary-microreactor: A new reactor concept for the intensification of heat and mass transfer in liquid-liquid reactions. *Catal. Today* **2003**, *79-80*, 433–439, doi:10.1016/S0920-5861(03)00056-7.
21. Jas, G.; Kirschning, A. Continuous flow techniques in organic synthesis. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 5708–5723, doi:10.1002/chem.200305212.
22. Geyer, K.; Codee, J.D.C.; Seeberger, P.H. Microreactors as tools for synthetic chemists - the chemists' round-bottomed flask of the 21st century? *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 8434–8442, doi:10.1002/chem.200600596.

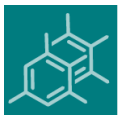
23. Wiles, C.; Watts, P. Continuous flow reactors, a tool for the modern synthetic chemist. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 1655–1671, doi:10.1002/ejoc.200701041.
24. Valera, F.E.; Quaranta, M.; Moran, A.; Blacker, J.; Armstrong, A.; Cabral, J.T.; Blackmond, D.G. The Flow's the Thing—Or Is It? Assessing the Merits of Homogeneous Reactions in Flask and Flow. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2478–2485, doi:10.1002/anie.200906095.
25. Hartman, R.L.; McMullen, J.P.; Jensen, K.F. Deciding whether to go with the flow: Evaluating the merits of flow reactors for synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 7502–7519, doi:10.1002/anie.201004637.
26. Burns, J.R.; Ramshaw, C. The intensification of rapid reactions in multiphase systems using slug flow in capillaries. *Lab Chip* **2001**, *1*, 10–15, doi:10.1039/b102818a.
27. Kashid, M.N.; Gerlach, I.; Goetz, S.; Franzke, J.; Acker, J.F.; Platte, F.; Agar, D.W.; Turek, S. Internal Circulation within the Liquid Slugs of a Liquid-Liquid Slug-Flow Capillary Microreactor. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, *44*, 5003–5010, doi:10.1021/ie0490536.
28. Zhang, L.; Geng, M.; Teng, P.; Zhao, D.; Lu, X.; Li, J.-X. Ultrasound-promoted intramolecular direct arylation in a capillary flow microreactor. *Ultrason. Sonochem.* **2012**, *19*, 250–256, doi:10.1016/j.ultsonch.2011.07.008.
29. Sinkovec, E.; Krajnc, M. Phase Transfer Catalyzed Wittig Reaction in the Microtube Reactor under Liquid-Liquid Slug-Flow Pattern. *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 817–823, doi:10.1021/op200061j.
30. Østby, R.B.; Stenstrøm, Y.H.; Didriksen, T. The use of flow chemistry for two-phase dibromocyclopropanation of alkenes. *J. Flow Chem.* **2015**, *5*, 69–73, doi:10.1556/JFC-D-14-00041.
31. von Keutz, T.; Cantillo, D.; Kappe, C.O. Enhanced mixing of biphasic liquid-liquid systems for the synthesis of gem-dihalocyclopropanes using packed bed reactors. *J. Flow Chem.* **2019**, *9*, 27–34, doi:10.1007/s41981-018-0026-1.
32. Richey, H.G., Jr.; Moses, L.M. Configurational stability of a cyclopropyl Grignard reagent containing a metalated 2-hydroxymethyl group. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4013–4017, doi:10.1021/jo00170a027.
33. Sydnes, L.K.; Skare, S. Reactions of 2,2-dibromocyclopropyl carboxylic acids with methyllithium. *Can. J. Chem.* **1984**, *62*, 2073–2078, doi:10.1139/v84-354.
34. Holm, K.H.; Skattebøl, L. Chemistry of gem-dihalocyclopropanes. XX. The effect of methyl and phenyl substituents on the vinylcyclopropylidene-cyclopentenylidene rearrangement. *Acta Chem. Scand. Ser. B* **1984**, *B38*, 783–794, doi:10.3891/acta.chem.scand.38b-0783.
35. Nishii, Y.; Matsumura, H.; Muroya, Y.; Tsuchiya, T.; Tanabe, Y. Novel synthetic pyrethroids containing a halocyclopropane structure. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1995**, *59*, 1355–1357, doi:10.1271/bbb.59.1355.
36. Molchanov, A.P.; Kostikov, R.R. Reaction of dichlorocarbene with allyl and cinnamyl alcohols. *Zh. Org. Khim.* **1987**, *23*, 69–71, doi:.
37. Skell, P.S.; Garner, A.Y. Reactions of bivalent carbon compounds. Reactivities in olefin-dibromocarbene reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 5430–5433, doi:10.1021/ja01601a073.
38. Jonczyk, A.; Fedorynski, M. Dihalocarbenes or Equivalents. In *Houben-Weyl - Methods of Organic Chemistry: Cyclopropanes: A. Synthesis*; de Meijere, A., Ed.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, Germany, 1997; Volume E 17a, pp. 589–734.
39. Kobayashi, Y.; Yoshida, S.; Nakayama, Y. Total synthesis of korormicin. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *2001*, 1873–1881, doi:10.1002/1099-0690(200105)2001:10<1873::AID-EJOC1873>3.0.CO;2-O.
40. Yadav, J.S.; Yadav, N.N.; Reddy, B.V.S. Studies directed towards the total synthesis of polyether antibiotic ionomycin: Asymmetric synthesis of fragments C(24)-C(32) and C(1)-C(23). *Tetrahedron* **2015**, *71*, 7539–7549, doi:10.1016/j.tet.2015.08.011.
41. Kumar, H.M.S.; Reddy, B.V.S.; Reddy, E.J.; Yadav, J.S. Iodine-catalyzed mild and efficient tetrahydropyranylation/depyranylation of alcohols. *Chem. Lett.* **1999**, 857–858, doi:10.1246/cl.1999.857.
42. Jung, Y.H.; Kim, J.D. One-pot synthesis of cinnamyl amines with various protecting groups from cinnamyl ethers. *Arch. Pharmacol. Res.* **2001**, *24*, 371–376, doi:10.1007/BF02975178.
43. Kroesen, U.; Knauer, L.; Strohmman, C. The Reactivity of Benzyl Lithium Species is Regulated by Intermediate Structures. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 6232–6235, doi:10.1002/anie.201702377.
44. Wijtmans, M.; Maussang, D.; Sirici, F.; Scholten, D.J.; Canals, M.; Mujic-Delic, A.; Chong, M.; Chatalic, K.L.S.; Custers, H.; Janssen, E.; et al. Synthesis, modeling and functional activity of substituted styrene-amides as small-molecule CXCR7 agonists. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *51*, 184–192, doi:10.1016/j.ejmech.2012.02.041.

45. Nguyen, B.H.; Perkins, R.J.; Smith, J.A.; Moeller, K.D. Solvolysis, Electrochemistry, and Development of Synthetic Building Blocks from Sawdust. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 11953–11962, doi:10.1021/acs.joc.5b01776.
46. Sheshenev, A.E.; Baird, M.S.; Bolesov, I.G. Synthesis of 1-bromo-substituted analogs of cis-deltamethrinic and cis-permethrinic acids. *Russ. J. Org. Chem.* **2005**, *41*, 1601–1609, doi:10.1007/s11178-006-0005-0.

Sample Availability: Samples of the compounds are not available from the authors.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



molecules

an Open Access Journal by MDPI



CERTIFICATE OF PUBLICATION



Certificate of publication for the article titled:

Two-Phase Dibromocyclopropanation of Unsaturated Alcohols Using Flow Chemistry

Authored by:

Runa Berg Østby; Terje Didriksen; Simen Gjelseth Antonsen; Steinar Sollien Nicolaisen;
Yngve Stenstrøm

Published in:

Molecules 2020, Volume 25, Issue 10, 2364



Academic Open Access Publishing
since 1996

Basel, May 2020



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway